

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la technologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme

Master

Spécialité : Génie des procédés Pharmaceutique

Thème :

Etude de l'activité antioxydante de l'ail

Présenté par :

- ✓ M^{elle} Rahmani Fatima Zohra
- ✓ M^{elle} Boulanouar Keira

Membres du Jury :

- Président : M^{me} L. Hadj Khelifa
- Examinatrice : M^{me} Dj. Aouameur
- Encadreur : M^{me} L. Ouadah

Année universitaire : 2018/2019

DEDICACES

L'aide de dieu "Allah" tout puissant Qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde.

Mes chers parents qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie.

Qui m'ont apporté leur appui durant toutes mes années d'études, pour leurs sacrifices et soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

À ma très belle chère mère Aïcha ; tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi, et puisse Dieu le tout puissant te préserver, t'accorder la santé, longue vie et bonheur. Je t'aime Maman.

À mon très cher père M'hamed; Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation, et puisse dieu t'accorder santé et longue vie. Je t'aime Papa. À mes très chers frères, Abd EL Kader, Mohamed et ses femme Saaïda.

À mes très chères sœurs ; Fadhila et son mari Oussama et ses enfants, tadj El din, badr El din, et Fatima et son mari Mohamed et ses enfants, Iyad, Abd EL Moain.

À toute ma famille.

Kheïra

DEDICACES

*Avec l'aide de Dieu le Tout puissant a enfin achevé ce travail ; le
quel je dédie à toutes les personnes qui me sont chères ;*

*A ceux qui mon cœur depuis sa naissance ; n'a pu éprouver
qu'amour et reconnaissance ;*

*A ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une
éducation digne de confiance.*

*A ceux qui m'ont soutenu nuit et jours et durant tout mon
parcours ;*

A vous mes chers parents ; Leïla et Lakhdar.

*A mes très chères sœurs ; Khadidja, Ismahane et ses belles filles
Aïcha, Leïla et à son mari Ahmed.*

A notre rayon de soleil, mes frères ; Mohamed Bachir, Yacine.

*A mon mari Yacine qui est la personne la plus chère qui m'a
encouragé et soutenu dans les moments les plus difficiles.*

A mes familles ; Rahmani, Boulechbak et Tami Nourine.

*A tous mes amies Surtout ; Houriya, Dalila, Nour el Houda, Ratiba
et leurs familles.*

*Je remercie toutes les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms
ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou
indirectement à la réalisation de ce travail.*

Fatima Zohra

Remerciements

Au terme de notre travail, en premier lieu nous tenons à remercier le bon dieu le tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage, la patience de réaliser ce modeste travail.

*Nos profonds remerciements s'accordent à notre promotrice **Mme Lamia Ouadah**, qui a accepté de nous encadrer, pour sa collaboration et son aide nécessaire à la réalisation de notre travail.*

*Nous remercions aussi les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer et de juger ce travail, tout particulièrement **Mme L. Hadj Khelifa** en qualité de présidente, ainsi qu'à **Mme Dj. Aouameur** Examinatrice du jury.*

Nous ne saurons oublier enfin de remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin ; à la réalisation de ce travail.

ملخص

تخضع المستخلصات النباتية حاليًا إلى الكثير من الأبحاث العلمية التي تهدف إلى استكشاف واستغلال خصائصها البيولوجية، وهي موضع تقدير كبير في المجالات العلاجية والغذائية ومستحضرات التجميل والأدوية. يهدف هذا العمل إلى تقييم، من ناحية، محتوى المركبات الفينولية في فصوص الثوم باستخدام طرق Follin-ciocalteu، ومن ناحية أخرى، نشاط مضادات الأكسدة لهذه المستخلصات عن طريق تغيير معايير التشغيل مثل المذيب (الماء و محلول الإيثانول بنسبة 80 ٪ في الماء) كيفية الاستخراج (بواسطة النقع، الاستخراج و الاستخلاص بالإغلاء) و هذا بوجود نسب مختلفة من الملح (0 ٪ ، 2.5 ٪ ، 5 ٪ ، 10 ٪ ، 20 ٪).

تبين أن إضافة الملح بكميات محددة جيداً يزيد من غلة الاستخراج. مستخلصات النبات المدروس، غنية بالبوليفينول. مستخلص الإيثانول يكشف عن محتوى مركب الفينول أعلى من المستخلصات المائية. قد يؤدي تقدم وقت الاستخراج إلى تقليل محتوى المركب الفينولي للمستخلص. الكمية المثلى من الملح هي 5 ٪ في المتوسط. إذا تم استخدام الماء كمذيب، فمن الأفضل أن يتم الاستخلاص بواسطة الإستخلاص بالإغلاء وإضافة الملح بنسبة 5 ٪ لزيادة الاستخراج.

يرتبط محتوى البوليفينول و تأثير مضادات الأكسدة ارتباطاً وثيقاً (كلم ازداد تركيز مادة البوليفينول كلما زادت قوة الارجاع). وبالتالي فإن إجمالي منتجات البوليفينول هي المسؤولة عن ارجاع الجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية : مركبات الفينول، DPPH، جذر، نشاط مضادات الأكسدة، فصوص الثوم، المستخلصات.

Résumé

Le but de ce travail est d'évaluer d'une part, la teneur en composés phénoliques des bulbes d'ail en utilisant la méthode Follin- ciocalteu et d'autre part, l'activité antioxydante de ces extraits en changeant les paramètres opératoires tels que le solvant (l'eau et une solution hydro-éthanolique à 80% en éthanol) le mode d'extraction (par macération, extraction et décoction) à différentes proportions de sel (0%, 2.5%, 5%, 10%, 20%)

Les extraits de la plante étudiés, sont riches en polyphénols. L'extrait éthanolique révèle une teneur en composés phénoliques plus élevée que les extraits aqueux. La progression de temps d'extraction peut diminuer la teneur en composé phénolique de l'extrait. La quantité de sel optimal est de 5% en moyenne pour donner une meilleure extraction de polyphénol. Si on utilise de l'eau comme solvant il vaut mieux de faire l'extraction par décoction et en ajoutant du sel à 5% ceci augmente encore plus l'extraction.

Le teneur polyphénolique et l'effet antioxydant sont étroitement liés (Plus la concentration polyphénolique augmente plus le pouvoir réducteur augmente aussi) Donc les produits polyphénoliques totaux sont responsables de la réduction des radicaux libres.

Mots clés : Composés phénoliques, Radical DPPH, Activité antioxydant, Bulbes d'ail, Extraits.

Abstract

The aim of this work is to evaluate, on the one hand, the content of phenolic compounds in garlic bulbs using the Follin-ciocalteu methods and, on the other hand, the antioxidant activity of these extracts by changing the operating parameters such as the solvent (water and a 80% ethanol solution in ethanol) the extraction mode (by maceration, extraction and decoction) has different proportions of salt (0%, 2.5%, 5%, 10%, 20%).

The extracts of the studied plant, are rich in polyphenols. The ethanolic extract reveals a higher phenolic compound content than the aqueous extracts. The extraction time progression can decrease the phenolic compound content of the extract. The optimal amount of salt is 5% on average to give better polyphenol content. If water is used as a solvent it is better to extract by decoction and adding 5% of salt, the further increases the extraction.

polyphenolic content and the antioxidant effect are closely related (more the polyphenolic concentration increases, more the reducing power increases) So, the total polyphenolic products are responsible for the reduction of free radicals.

Key words: Phenolic compounds, Radical DPPH, Antioxidant activity, Garlic bulbs, Extracts.

Liste des tableaux**Liste des figures****Liste des symboles et Abréviations**

| | |
|---|----|
| Introduction | 1 |
| <u>Partie1 : Synthèse bibliographique</u> | |
| Chapitre I : Radicaux libres, Stress oxydant et Activité antioxydante. | |
| I.1. Historique | 3 |
| I.2. Les radicaux libres | 3 |
| I.2.1. Définition | 3 |
| I.2.2. Nature des radicaux libres | 3 |
| I.2.2.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène | 4 |
| I.2.2.2. Les espèces libres non oxygénées | 5 |
| I.2.3. Rôles physiologiques des radicaux libres | 6 |
| I.2.4. Les cibles des radicaux libres | 6 |
| I.3. Le stress oxydant | 6 |
| I.3.1. Origine du stress oxydant | 7 |
| I.3.2. Les maladies liées aux stress oxydatif | 7 |
| I.4. Les systèmes de défense antioxydant | 7 |
| I.4.1. Classification des antioxydants | 8 |
| I.4.1.1. Les systèmes antioxydants d'origine naturelle | 10 |
| a. Systèmes antioxydants enzymatique | 10 |
| b. Systèmes antioxydants non enzymatiques | 11 |
| I.4.1.2. Les antioxydants de synthèse | 12 |
| I.4.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante | 13 |
| Chapitre II : Composés phénoliques | |
| II.1. Généralités | 14 |
| II.2. Composés phénoliques | 14 |
| II.3. Biosynthèse des polyphénols | 15 |
| II.3.1. La voie de Shiki mate | 15 |
| II.3.2. La voie de l'acétate malonate | 16 |
| II.4. Classification des composés phénoliques | 16 |

| | |
|---|----|
| II.4.1. Les phénols simples et les acides phénoliques | 17 |
| II.4.2. Les anthocyanes | 18 |
| II.4.3. Les tannins | 19 |
| II.4.4. Les flavonoïdes | 20 |
| II.4.5. Coumarines | 21 |
| II.4.6. Quinones | 22 |
| II.4.7. Stilbène | 22 |
| II.4.8. Lignanes | 23 |
| II.5. Intérêt des composés phénoliques | 23 |
| II.5.1. Applications industrielles des polyphénols | 23 |
| II.5.2. Rôle Chez les végétaux | 24 |
| II.5.3. Chez les humains | 24 |

Chapitre III : L'espèce végétale (l'ail)

| | |
|---|----|
| III.1. Généralités | 25 |
| III.2. Définition et caractéristiques de la famille des Alliacees | 25 |
| III.3. <i>Allium sativum</i> L. (l'ail) | 26 |
| III.3.1. Origine | 26 |
| III.3.2. Classification de l'espèce <i>Allium sativum</i> L | 26 |
| III.3.3. Appellation vernaculaire | 27 |
| III.3.4. Description botanique | 27 |
| III.3.5. Différentes espèces | 28 |
| III.3.6. Culture | 29 |
| III.3.7. La composition chimique de l'ail | 29 |
| III.3.7.1. Les principaux composés actifs de l'ail | 29 |
| III.3.7.2. La composition des différents types d'ail | 30 |
| a. L'huile essentielle d'ail | 30 |
| b. La poudre d'ail | 30 |
| c. Le macérât | 30 |
| d. L'extrait d'ail vieilli | 30 |
| III.3.8. Les principales propriétés de l'ail à but thérapeutique | 31 |

Partie 2 : Etude expérimentale**Chapitre IV : Matériels et Méthodes**

| | |
|--|----|
| IV.1. Matériels | 33 |
| IV.1.1. Matériel végétal et échantillonnage | 33 |
| IV.1.1.1. Récolte de la plante | 33 |
| IV.1.1.2. Extraction par macération | 33 |
| IV.1.1.3. Préparation des extraits | 33 |
| IV.1.2. Produits et réactifs chimique | 34 |
| IV.1.3. Appareils | 34 |
| IV. 2. Méthodes | 35 |
| IV.2.1. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols | 35 |
| IV.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux | 35 |
| IV.2.2. Méthodes de dosage des activités antioxydantes | 36 |
| IV.2.2.1. Test au DPPH | 36 |

Chapitre V : Résultat et discussion

| | |
|---|----|
| V.1. Etude comparative de la composition polyphénolique totale dans l'ail frais | 39 |
| V.1.1. Détermination de la Teneur en polyphénol totaux | 39 |
| V.1.2. L'effet de la concentration en sel | 40 |
| V.1.3. L'effet de la nature de solvant | 43 |
| V.1.4. Etude de l'effet de mode d'extraction | 44 |
| V.1.5. Variation de PH | 46 |
| V.2. Méthodes de dosage des activités antioxydantes | 47 |
| V.2.1. Pouvoir antiradicalaire des extraits de L'ail sur le DPPH | 47 |

| | |
|-------------------------|----|
| Conclusion | 52 |
|-------------------------|----|

Références bibliographiques.**Annexes.**

| | |
|---|----|
| Tableau I.1:Principales sources de production des radicaux libres | 5 |
| Tableau I.2: Les différentes activités antioxydant non enzymatiques | 11 |
| Tableau II.1: Principales classes de composés phénoliques selon le nombre de carbone | 17 |
| Tableau II.2: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.. | 24 |
| Tableaux III.1: Classification de l'espèce <i>Allium sativum</i> L | 26 |
| Tableau V.1 : Teneur en PPT dans les différents extraits | 39 |
| Tableau V.2: Réduction de DPPH dans les différents extraits | 47 |

| | |
|---|----|
| Figure I.1 : Balance oxydants/ antioxydants en faveur d'un stress oxydatif | 7 |
| Figure I.2: Les systèmes de défense antioxydant contre les espèces réactives de l'oxygène.... | 8 |
| Figure I.3: Classification des antioxydants | 9 |
| Figure I.4: Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques..... | 12 |
| Figure II.1 : Schéma générale de la voie Shiki mate | 15 |
| Figure II.2 : Les principaux acides hydroxy benzoïques | 18 |
| Figure II.3 : Les principaux acides hydroxy cinnamiques | 18 |
| Figure II.4 : La structure chimique de squelette de base des anthocyanes | 19 |
| Figure II.5 : Structure chimique des acides galliques (A) et ellagiques (B) | 19 |
| Figure II.6 : Tannins condensés | 20 |
| Figure II.7: Structure chimique de squelette de base des flavonoïdes | 20 |
| Figure II.8 : Structures des différentes classes de flavonoïdes | 21 |
| Figure II.9 : Structure de bades coumarines | 21 |
| Figure II.10 : Structure de la quinones (1,2-benzoquinone et 1,4 benzoquinones) | 22 |
| Figure II.11 : Représentation topologique du (E)-et du (Z)- stilbéne | 22 |
| Figure II.12: Structure de la lignane | 23 |
| Figure III.1: Allium sativum (l'ail) | 28 |
| Figure III.2: Quelques exemples d'espèces ornementales du genre Allium | 28 |
| Figure III.3: La composition d'un bulbe d'ail | 29 |
| Figure III.4: Schéma résumant les majeurs constituants présents dans les différentes préparations possibles d'ail | 31 |
| Figure IV.1 : Protocole de dosage des phénols totaux soluble | 36 |
| Figure IV.2 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH | 37 |
| Figure IV.3 : Protocole expérimental de test DPPH | 38 |
| Figure V.1 : Teneur de polyphénols totaux extraits par la solution hydro-éthanolique | 41 |
| Figure V.2 : Teneur de polyphénol extrait par macération dans la solution hydro-éthanolique pendant 24 heures | 41 |
| Figure V.3 : Teneur de polyphénol dans fraction extrait par macération dans l'eau chaude pendant 24 heures | 42 |
| Figure V.4 : Teneur de polyphénol dans fraction extrait par macération dans l'eau froide pendant 24 heures | 42 |
| Figure V.5: Teneur de polyphénols totaux par extraction à l'eau froide | 42 |
| Figure V.6 : Teneur de polyphénols totaux extraits par macération dans l'eau et la solution hydro- éthanolique aqueux pendant 24 h | 43 |

| | |
|---|----|
| Figure V.7 : Teneur de polyphénols totaux extraits par l'eau chaude, l'eau froide et la solution hydro-éthanolique | 43 |
| Figure V.8 : Teneur de polyphénol par extraction par de l'eau chaude et froide | 45 |
| Figure V.9 : Teneur de polyphénol obtenu par extraction et macération pendant 24 h dans la solution hydro-éthanolique | 45 |
| Figure V.10 : Variation de PH en fonction de concentration de sel | 47 |
| Figure V.11 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH par l'extrait dans la solution hydro-éthanolique (macération, extraction) | 49 |
| Figure V.12 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH l'extrait aqueux (macération, extraction) | 49 |
| Figure V.13 : L'effet du solvant d'extraction sur la réduction du radical libre DPPH | 50 |
| Figure V.14 : pourcentage réduction du radical libre DPPH en fonction de teneur PPT | 51 |

ABTS⁻ : L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

ACNs : Anthocyanines.

Acétyl-CoA : L'acétylcoenzyme A.

ADN : Acide ribonucléique.

APG : Groupe des angiospermes phylogéniques.

AGE: Aged garlic extract.

BHA: L'hydroxyanisolbutyle.

BHT : Butylhydroxytoluène.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

cCu-ZnSOD: SOD à cuivre zinc.

DADS : Disulfure de diallyle.

DAS : Sulfure de diallyle.

DATS : Trisulfure de diallyle.

DMPD : N, N'-p-di-méthylque-phénylènediamine.

DPPH[•] : DiPhénylpicryl-hydrazyle(forme oxydée).

DPPH-H : Diphénylpicryl-hydrazine (forme réduite).

EAG : Equivalent acide gallique.

EAO : Espèces réactives de l'oxygène.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène ou oxygénées

FCR : Réactif foline -ciocalteu.

Fe²⁺: Ion ferreux.

Fe³⁺: Ion ferrique.

GPx: Glutathionperoxydase.

Liste des symboles et abréviations

GSH: Reduced glutathione.

GSSG : Glutathionedissulfide.

H⁺: Proton.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

HOC1 : Acide hypochloreux.

LPS : Lipopolysaccharides.

Mn-SOD : SOD à manganèse.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide.

Nm : Nano mètre.

NO : Monoxyde d'azote.

MS : Matière sec.

O₂: Oxygène.

¹O₂: Oxygène singulet.

O₂⁻: Anion superoxyde.

OH· : Radical libre hydroxyle.

ORAC : Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène.

PIEGE : Paramètre total d'antioxydant de radical en piégeage.

PLC : Photo chimiluminescence.

PPT : Polyphénols totaux.

ROO· : Radical peroxyde.

ROOH: Hydro peroxyde lipidique.

ROS : Réactive oxygène species.

SAC : S-allyl-cystéine.

SAMC : S-allyl-mercaptocystéine.

Liste des symboles et abréviations

SOD : Superoxyde dismutase.

TBHQ: Tert-butyl hydro quinone.

UV: Ultra-violet.

Introduction générale

Depuis la nuit des temps, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition contre les maladies bénignes. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales afin de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes.

Actuellement, la société scientifique, biologiste et chimiste, met en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). L'accumulation de ces molécules dans l'organisme aboutit à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques. Parmi les activités biologiques attribuées aux plantes médicinales, l'activité antioxydant se révèle parmi les plus importantes en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant.

Parmi les plantes médicinales, l'ail, il est considéré comme un épice dans les préparations culinaires, cette plante est communément utilisée en médecine populaire pour faciliter la circulation, équilibrer la pression artérielle, stimuler le cœur et corriger une dyslipidémie.

Ce travail vise à étudier l'activité antioxydant et le dosage des composés phénoliques totaux présents dans les bulbes de l'ail.

Notre travail sera présenté comme suit : une première partie concerne la synthèse bibliographique. Le premier chapitre est consacré à un rappel sur le stress oxydant, les radicaux libres et différents antioxydants enzymatique et non enzymatiques. Nous avons ensuite dans le deuxième chapitre abordé les différentes classes des polyphénols, leurs biosynthèses ainsi que leurs intérêts sur la santé. Nous avons enfin dans le troisième chapitre abordé la description de la plante étudiée et sa culture, sa composition chimique, son effet bénéfique sur l'homme.

La seconde partie concerne l'étude expérimentale, qui comporte deux chapitres, dans le premier on décrit la méthode de travail ainsi que le matériel utilisé ; le deuxième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion et interprétation :

- Traitement de l'ail et extraction des produits antioxydants.
- Etude quantitative des polyphénols par le dosage des polyphénols totaux.

- Etude du pouvoir antioxydant de l'ail par mesure du pourcentage réduction du radical DPPH.

Et en fin, on termine par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats.

Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Radicaux libres, Stress oxydant et
Activité antioxydante

I.1. Historique :

Les Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et les antioxydants de viennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public.

Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, Gerschman puis Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement.

En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant superoxyde de dismutase « SOD », démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit des espèces réactives d'oxygène « ERO » dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants [1].

I.2. Les radicaux libres :

I.2.1. Définition :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques instables, atomes ou molécules, contenant un électron non apparié (célibataire) sur leur couche orbitale externe. A une courte durée de vie (environ 10^{-4} s), ces composés peuvent réagir avec les molécules les plus stables pour appairer leurs électrons. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un électron (agissant alors comme un réducteur) [2]. Cette première réaction conduit généralement à la formation de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule [3].

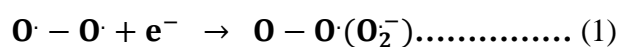
I.2.2. Nature des radicaux libres :

La majorité des radicaux libres sont dérivées de l'oxygène, certaines peuvent être dérivées de l'azote (NO) qui possède un électron partagé entre son atome d'azote et son atome d'oxygène, ces radicaux libres ont un rôle physiologique important en agissant à faible concentration comme des seconds messages capables de régler le phénomène d'apoptose qu'est un suicide programmé des cellules, évitant leurs évolutions vers un état cancéreux [4].

I.2.2.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène :

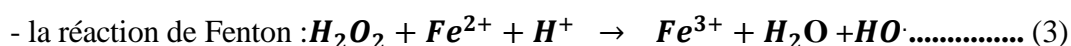
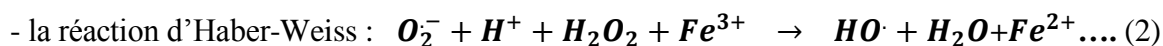
L'oxygène que l'on respire est nécessaire aux réactions chimiques nous permettant de produire notre énergie. C'est au cours de ce métabolisme normal de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries que la plupart des radicaux libres se forment qui sont hautement toxiques [5]. Les ERO sont toxiques et interagissent avec toute une série des substrats biologiques importants [6].

- **Ion superoxyde O_2^-** est un dérivé très réactif de l'oxygène, Il est produit au cours du métabolisme mitochondrial par l'acquisition d'un électron par l'oxygène moléculaire suite à la réaction suivante :



Relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme. Mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives.

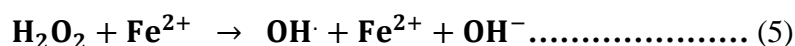
- **Radical libre hydroxyle ($OH \cdot$)** est très réactif. Son temps de demi-vie en milieu aqueux est de 10-6secondes. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose. C'est un dérivé de l'ion superoxyde. Il peut être produit à la suite de diverses réactions. Nous en citerons deux à titre d'exemple, comme :



- **L'oxygène singulet (1O_2)** Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée [7]. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante :



- **Le radical peroxyde (H_2O_2)** est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène ROS même s'il n'a pas une structure radicalaire et relativement faible mais il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs et de réagir avec les ions partiellement réduits Fe^{2+} et Cu^+ pour former le radical hydroxyle dans la réaction de Fenton [8] :



Il peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les équations suivantes :



La production des radicaux libres est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production des radicaux libres oxygénés [9].

I.2.2.2. Les espèces libres non oxygénées :

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les ROS. Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs. Nous citerons, par exemple, les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques. Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ROS générant des molécules réactives et nocives [10].

Les autres sources de production des radicaux libres sont représentées dans le (Tableau I.1). Elles sont classées en deux catégories :

Tableau I.1 : Principales sources de production des radicaux libres [11].

| Sources endogènes | Sources exogènes |
|---|------------------------|
| -Inflammation. | -pollution diverses. |
| -production de radicaux libres lors des respiration oxydative (microchondires). | .Rayonnement. |
| -cellules phagocytaires. | -radiation. |
| -métabolisme de l'acide arachidonique. | -métaux de transition. |
| -système xanthine\ Xanthine oxydase. | -pesticides. |
| | -médicament. |

I.2.3. Rôles physiologiques des radicaux libres :

Le rôle des ERO est très compliqué car ils peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont produites en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activité des facteurs de transcription, Ils sont impliqués dans le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule, la défense immunitaire contre les agents pathogènes, la régulation de la dilatation capillaire et le fonctionnement de certaines neurones, notamment ceux de la mémoire [11,12].

I.2.4. Les cibles des radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent être à l'origine de multiples lésions cellulaires. Leurs structures cibles essentielles : l'ADN (modification des bases, casseur des brins) [13], les membranes cellulaires (changement de la fluidité, perméabilité altération des propriétés fonctionnelles des cellules) [9], les protéines (modification structurales et fonctionnelles), les lipides(peroxydation lipidique) [13,14] et toutes molécules prouvent être déstabilisées.

C'est pourquoi, ils seraient impliqués dans le développement de maladies telles que le cancer, les maladies neuro-dégénératives et la pathogénèse des infections virales... Ils peuvent s'attaquer aux cellules du système immunitaire et donc altérer les réactions de défenses de l'organisme [9].

I.3.Le stress oxydant :

L'augmentation de la production des radicaux libres dans la cellule provoque le stress oxydant [15] qui est un déséquilibre de la balance physiologique entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO qui est représenté dans la (Figure I.1). [16]. Il se produit lorsque la génération des radicaux libres excède la capacité du mécanisme de défense des antioxydants [9].

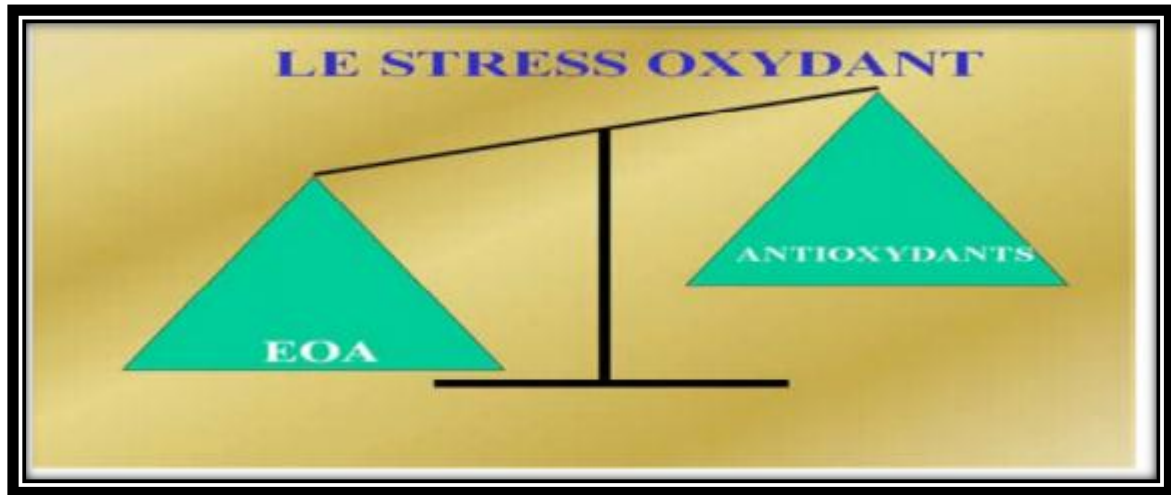


Figure I.1 : Balance oxydants/ antioxydants en faveur d'un stress oxydatif [16].

I.3.1. Origine du stress oxydant :

Le stress oxydant est un événement important dans la cellule, Les effets de ce stress sont les conséquences de l'oxydation des molécules importantes, tels que les lipides, les protéines et l'ADN [17].

I.3.2. Les maladies liées aux stress oxydatif :

Le stress oxydant provoqué par les ERO joue un rôle important dans l'apparition de plusieurs maladies chroniques et dégénératives [17,18] Le stress oxydant provoque l'oxydation des lipides de la membrane cellulaire et affecte les fonctions physiologiques et mentales, Le stress oxydant augmente par la présence de divers facteurs de risque tels que : le tabagisme l'hypertension, le diabète et l'obésité [19].

I.4. Les systèmes de défense antioxydant :

Pour protéger les tissus contre les effets nocifs des ERO, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydants (figure I.2.). Les antioxydants sont tous substance ayant la capacité de supprimer, retarder, prévenir, empêcher ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible [20]. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif.

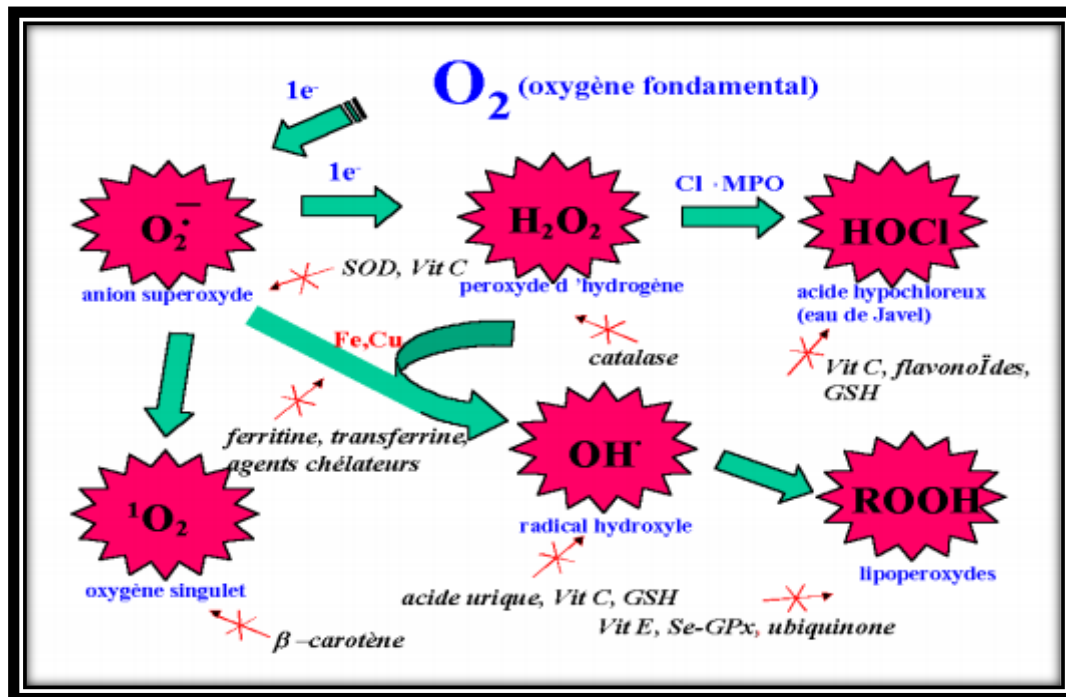


Figure I.2: Les systèmes de défense antioxydant contre les espèces réactives de l'oxygène [21].

I.4.1. Classification des antioxydants :

Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine. On distingue deux grandes classes : antioxydant de synthèse et antioxydant naturelle qui est partagé en antioxydant enzymatique et non enzymatique (figure I.3).

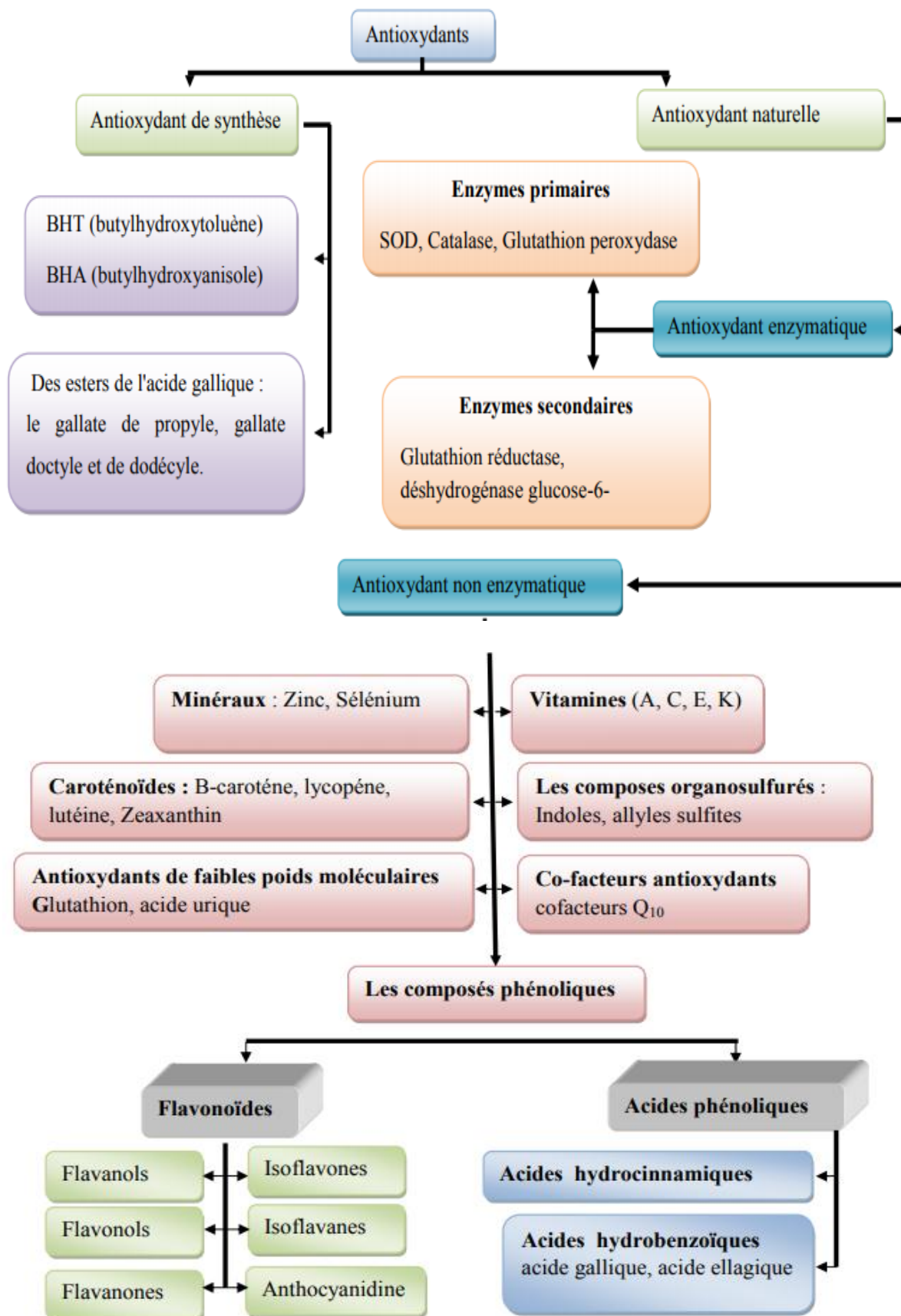


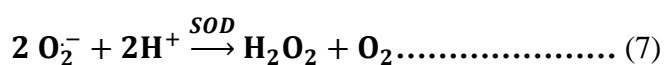
Figure I.3: Classification des antioxydants [22].

I.4.1.1. Les systèmes antioxydants d'origine naturelle :

a. Systèmes antioxydants enzymatiques :

Les enzymes constituent la première ligne de défense contre les radicaux libres qui repose principalement sur trois enzymes.

- **Super oxyde dismutase (SOD)** : Superoxyde dismutase est l'enzyme antioxydant la plus importante dans la défense contre le stress oxydatif, qui est capable d'éliminer l'anion superoxyde en produisant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène [22, 23, 24] :

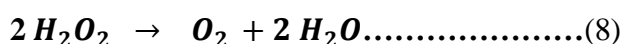


Il existe plusieurs enzymes qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (cytosolique, mitochondriale ou extracellulaire) [25].

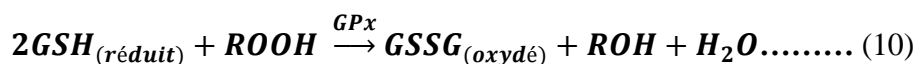
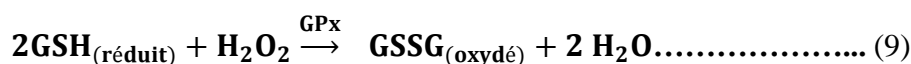
- SOD à manganèse (Mn-SOD) : protège la mitochondrie.

- SOD à cuivre zinc, protège le cytosol (cCu-ZnSOD), La face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu-ZnSOD) ou Le plasma sanguin (pCu-ZnSOD).

- **Catalase** : est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. La réaction catalysée par cette enzyme consiste en une dis mutation du peroxyde d'hydrogène [26] :



- **Glutathion peroxydase (GPx)** : Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. La glutathion peroxydase constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable de dégrader des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) [27] :



- **Glutathion réductase (GR)** : Est une flavoprotéine qui permet de régénérer le glutathion réduit GSH à partir de sa forme oxydée (GSSG) en utilisant le NAD(P) H comme cofacteur, cette enzyme est donc indispensable au maintien de l'activité de la glutathion oxydase et empêche une accumulation de glutathion oxyde qui provoque diverses perturbations métaboliques dont l'inhibition de la synthèse protéique [28]. Elle se trouve dans le cytosol et les mitochondries.

b. Systèmes antioxydants non enzymatiques :

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (Vitamine C et E, Polyphénols...). Les composés phénoliques, présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les extraits végétaux.

Tableau I.2 : Les différentes activités antioxydant non enzymatiques [29].

| Système de défense | Nature | Mode d'action |
|--|-------------------------------|---|
| Activités Antioxydant non enzymatiques | Vitamine E(tocophérol) | Empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant |
| | Vitamine C(acide ascorpique) | Réagir avec des espèces réactives de l'Oxygène comme HO [·] ou O ₂ . Elle peut recycler l'α-tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides. |
| | Glutathion | Joue un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acide nucléique et détoxifiant des résides. |
| | β Carotène | Captation d' Oxygène singulet ¹ O ₂ et fixation des métaux de transition. |

| | | |
|--|-------------------|--|
| | Les oligoéléments | Agissent comme des antioxydant indirects via la régulation de l'homocystéinémie, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, la lutte contre l'inflammation et activités des enzymes antioxydantes. |
| | Les polyphénols | Elimination des effets d'espèces réactives de l'Oxygène ainsi que de chélater les différents métaux de transition. |

I.4.1.2. Les antioxydants de synthèse :

Les antioxydants synthétiques sont utilisés depuis de nombreuses années. Mais, récemment, beaucoup d'études ont porté sur la toxicité élevée des antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire, comme, par exemple, le butylhydroxytoluène (BHT), butylhydroxyanisole (BHA), le tétra butyl hydroquinone (TBHQ), etc. [30,31]. Le besoin de réduire l'utilisation des antioxydants synthétiques (maintenant limitée dans plusieurs pays en raison de leurs possibles effets indésirables sur la santé humaine) impose d'orienter le marché vers des antioxydants d'origine naturelle et stimule la recherche dans ce domaine [32]. Les plantes représentent une source très riche et renouvelable d'antioxydants naturels [30,31]. L'industrie des aliments propose plusieurs antioxydants naturels comme additifs alimentaires. Le développement de méthodes de production de ces substances naturelles, spécialement à partir de plantes, est un domaine prometteur et en pleine croissance [33].

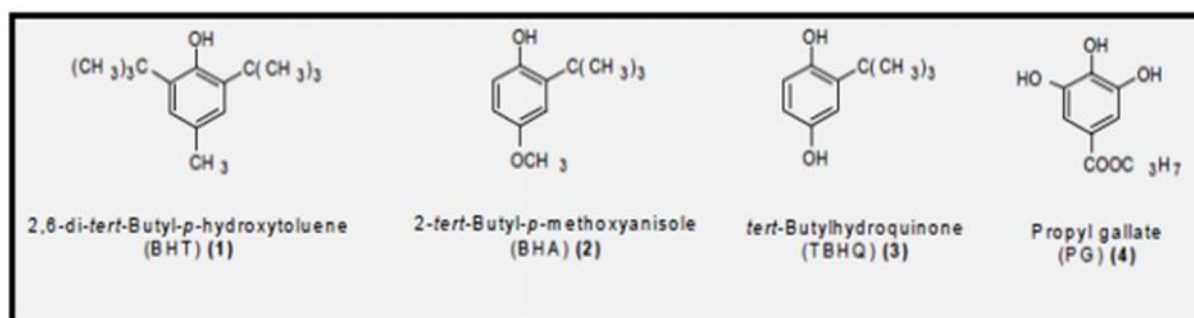


Figure I.4: Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques [34].

I.4.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant :

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire [35] Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives.

Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante décomposée, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés [36]. Une autre méthode a été proposée par Glavind et Holmer (1967) qui combine la méthode précédente avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fraction antioxydantes en employant le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. La génération de radical libre est reliée avec l'oxydation dans les aliments et les systèmes biologiques. Les méthodes principales comportent, le balayage des radicaux de superoxyde (O_2^{\cdot}); le balayage de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ; le balayage d'acide hypochloreux (HOCl) [37] ; le balayage du radical d'hydroxyle (HO^{\cdot}) ou le balayage du radical du peroxyde ROO^{\cdot} .

Parmi ces méthodes, la méthode de PIEGE ; la méthode d'ORAC (capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) [38]. la méthode d'ABTS (le balayage du radical 2,2-azinobis-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate) ; le balayage du radical stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (la méthode du radical *DPPH*), la méthode de DMPD (le balayage du radical N,N'-p-di-méthylque -phénylène diamine) ou la méthode de photochimie luminescence (PLC) [39].

Chapitre II :

Composés phénoliques

II.1. Généralités :

Les plantes sont d'une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques qui sont apportés à la plante par la photosynthèse et la nutrition, ils accumulent fréquemment des métabolites dites « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [40,41].

Métabolites primaires : sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques [42].

Métabolites secondaires : sont des substances chimiques appelées principes actifs élaborées par la plante, qui vont lui permettre de lutter contre toutes les agressions environnementales.

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...), avec une répartition très inégale selon les végétaux, quelque fois entre des espèces très voisines ou même entre différentes sous-espèces ou variétés à l'intérieur d'une même espèce [40,41].

II.2. Composés phénoliques :

Les composés phénoliques interviennent dans la prévention et le traitement des maladies, avec plus de 8000 structures phénoliques connues, ils constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal [43]. Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupements hydroxyles et sont le produit du métabolisme secondaire des plantes [44]. Selon le nombre d'unités phénoliques présentes, on les classe en phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignines et les xanthones [45].

II.3. Biosynthèse des polyphénols :

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates décarbones via la voie de l'acide Shiki Mique et la voie de l'acétate malonate [46].

II.3.1. La voie de Shiki mate :

C'est la voie de biosynthèse principale des composés aromatique. Cette voie du Shiki mate est très spécifique des végétaux et conduit à la synthèse des trois acides aminés essentiels suivants : phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phényl propanoide [47].

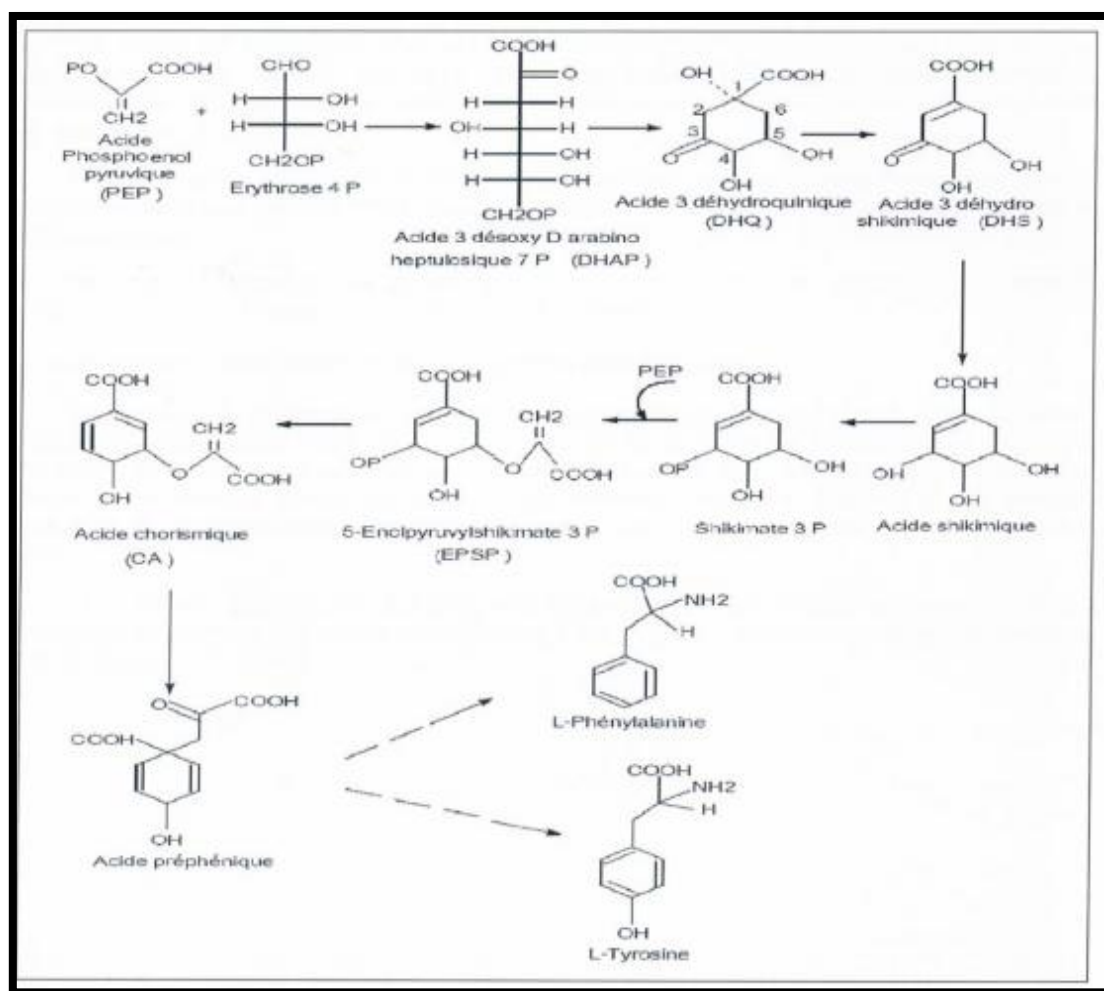


Figure II.1 : Schéma générale de la voie Shiki mate [47].

II.3.2. La voie de l'acétate malonate :

Ce mode de formation plus secondaire consiste à la cyclisation des chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenus par condensation de groupements acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyle CoA en malonyl-CoA. Chez les flavonoïdes, les anthocyanes, le cycle benzénique latéral (A) provient de l'enchaînement de 3 acétyl-CoA [48].

II.4. Classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau II.1) qui se différencient d'abord par [49] :

- Les voies de la biosynthèse.
- La complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées).
- Le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...).
- Les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines et d'autres métabolites secondaires qui peuvent être des composés phénoliques).

Les composés phénoliques se regroupent en quatre groupes [50] :

- Les acides benzoïques, les acides cinnamiques et les coumarines.
- Les flavones, flavols et dérivés voisins.
- Les chalcones, dihydrochalcones et aurones.
- Les anthocyanes.

Tableau II.1 : Principales classes de composés phénoliques selon le nombre de Carbone [48].

| Nombre de C | Classe | Exemples /origine |
|-----------------------|--|--|
| C_6 | Phénols simples | Hydro quinine, catéchol |
| C_6-C_1 | Acides phénols | Acide salicylique Acide p(OH) benzoïque |
| C_6-C_3 | Acide cinnamique Coumarines Phénylpropènes | Acides caféique, férulique (café, pomme) Esculétine, scopolétine (citron), Eugénol (Giroflier) |
| $(C_6 - C_3)^2$ | Lignane | Pinorésinol (pin) |
| $(C_6 - C_3)^n$ | Lignine | Bois, noyau des fruits |
| $C_6 - C_3 - C_6$ | Flavonoïdes Iso flavonoïdes Anthocyanes | Apigénine, Lutéoline, quercétine (fruits) Génistéine(soja, pois), pèlargonidine, cyanidine et delphinidine (fleurs, fruits rouges). |
| $(C_6 - C_3 - C_6)^2$ | Bi flavonoïdes | Amentoflavone |
| $C_6 - C_3 - C_6)^n$ | Proanthocynes | Procyanidines, prodelpinidines (Raisin rouge) |

II.4.1. Les phénols simples et les acides phénoliques :

Ils ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories :

- **Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque** : Ils sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides [51].

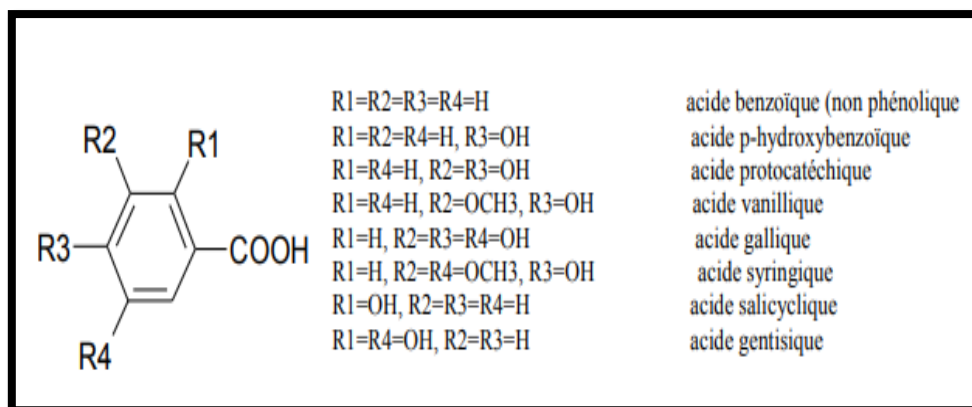


Figure II.2: Les principaux acides hydroxy benzoïques [52].

- **Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique** : Ils sont souvent estérifiés, les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinapique[51].

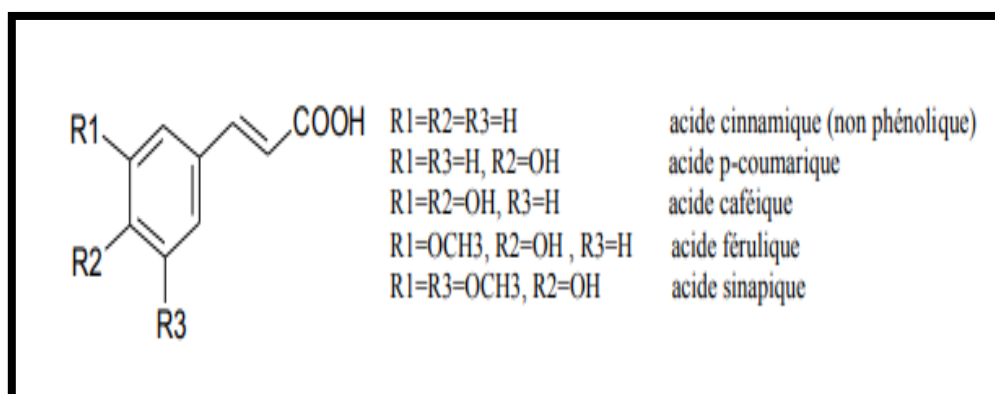


Figure II.3: Les principaux acides hydroxy cinnamiques [52].

II.4.2. Les anthocyanes (ACNs) :

Les anthocyanes donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose ou rouge. Ces molécules ont, comme les flavonoïdes, un squelette de base en C15 formé de deux cycles A et B, et d'un hétérocycle (cycle C) ; mais leur caractéristique principale est que ce dernier est chargé positivement. Cette charge est due à leur structure de base commune : le cation flavylumou 2 phenyl 1-benzopyrilium [53].

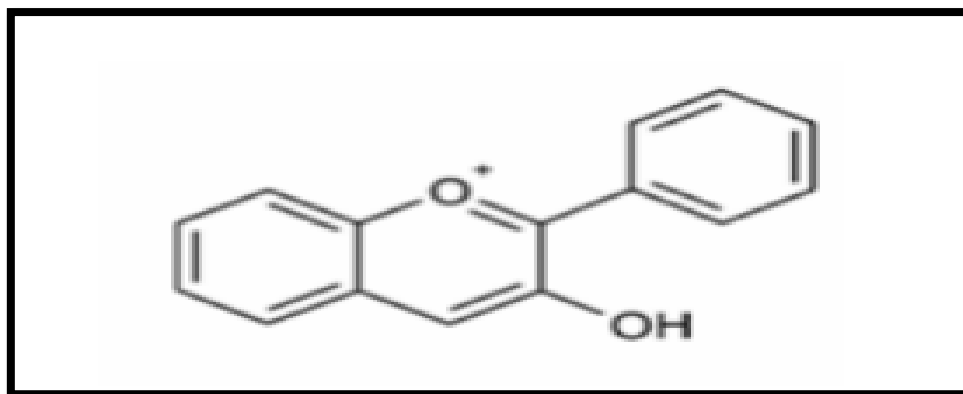


Figure II.4 : La structure chimique de squelette de base des anthocyanes [54].

II.4.3. Les tannins :

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes principaux :

- **Les tannins hydrolysables** : Ce sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique [55].

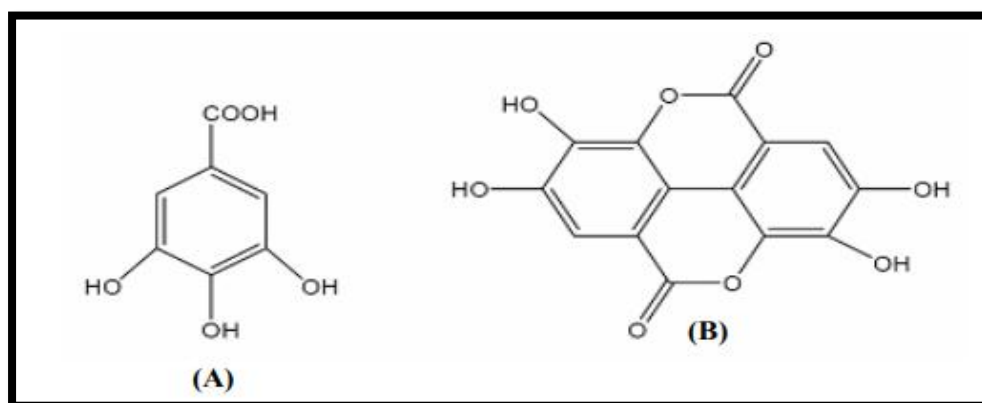


Figure II.5 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B) [55].

- **Les tannins condensés** : Ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols [55].

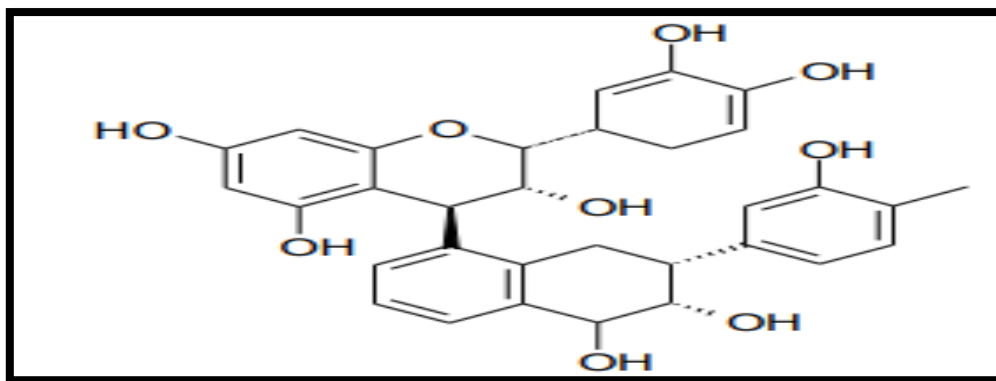


Figure II.6: Tannins condensés [55].

II.4.4. Les flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels que le thé, le vin rouge et d'autres parties de la plante [56].

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C_6 (A et B) reliés, entre eux par une chaîne en C_3 qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) [54].

Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques [57]

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C, c'est-à-dire la présence de double liaison $C_2 - C_3$, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo [56].

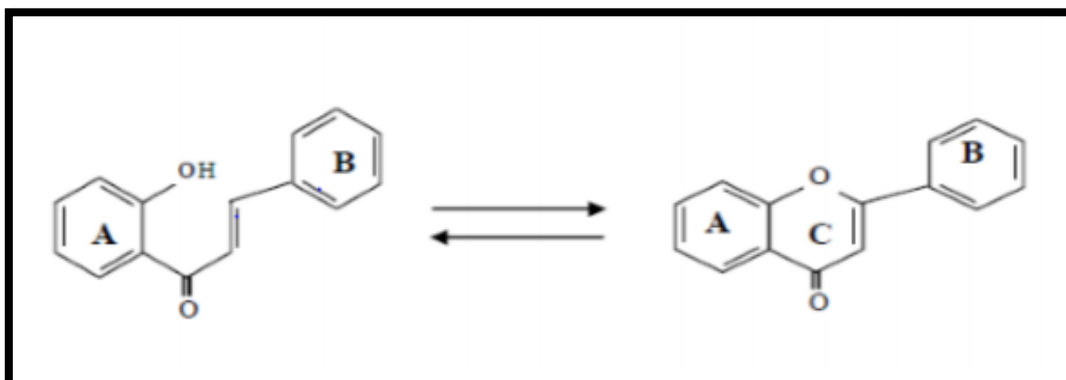


Figure II.7: structure chimique de squelette de base des flavonoïdes [53].

➤ **Classification :**

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central [58].

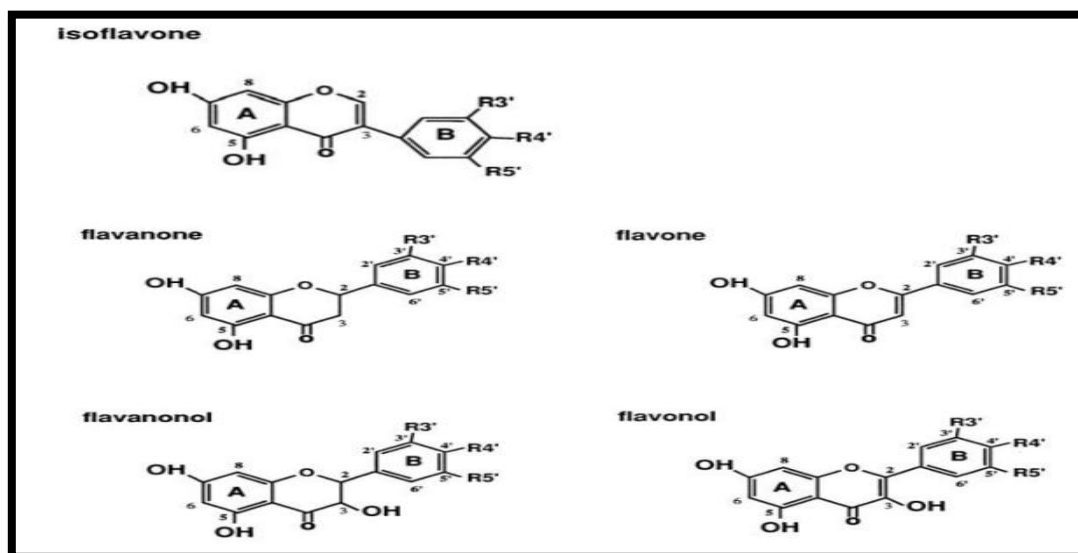


Figure II.8 : Structures des différentes classes de flavonoïdes [58].

II.4.5. Coumarines :

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de $C_6 - C_3$, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone et toutes sont substituées en C- 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [59].

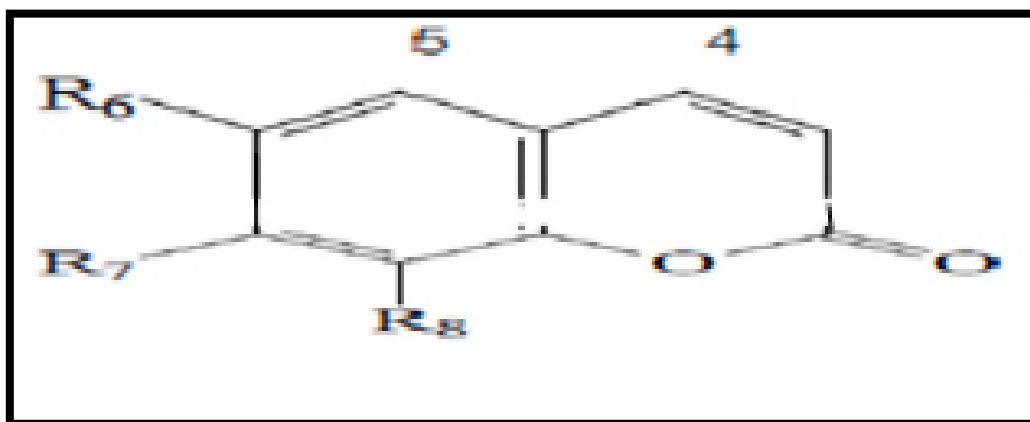


Figure II.9: Structure de base des coumarines [59].

II.4.6. Quinones :

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5 diénique (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5- diénique (ortho-quinones). Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs [59].

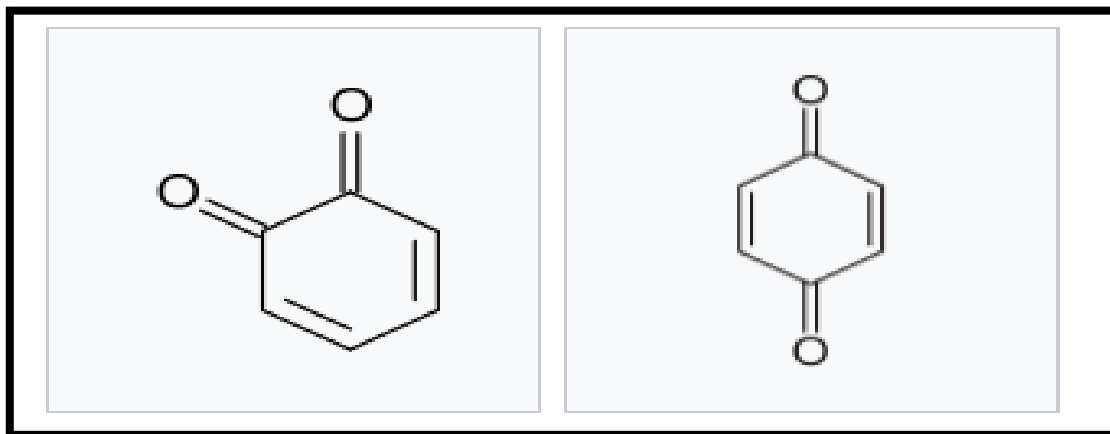


Figure II.10: Structure de la quinone (1,2-Benzoquinone et 1,4-Benzoquinone).

II.4.7. Stilbène :

Les membres de cette famille possèdent la structure C₆-C₂-C₆ comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides [60].

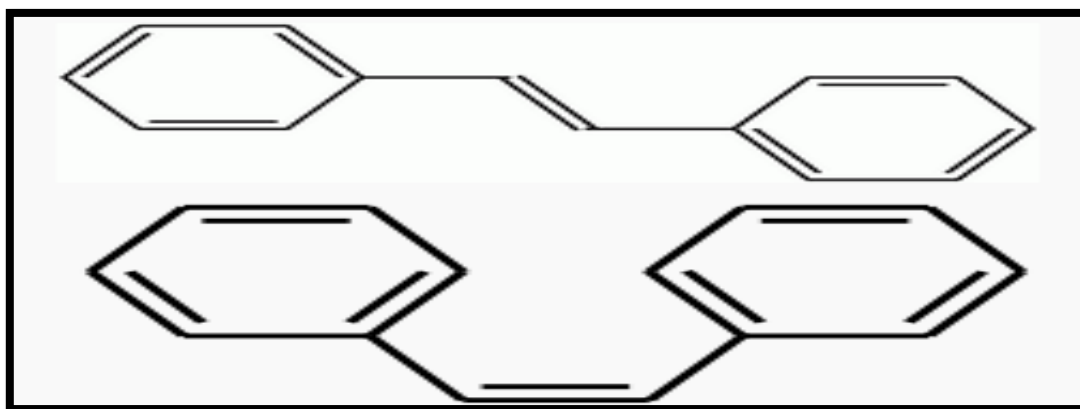


Figure II.11: Représentation topologique du (E)- et du (Z)-stilbène.

II.4.8. Lignanes :

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles.

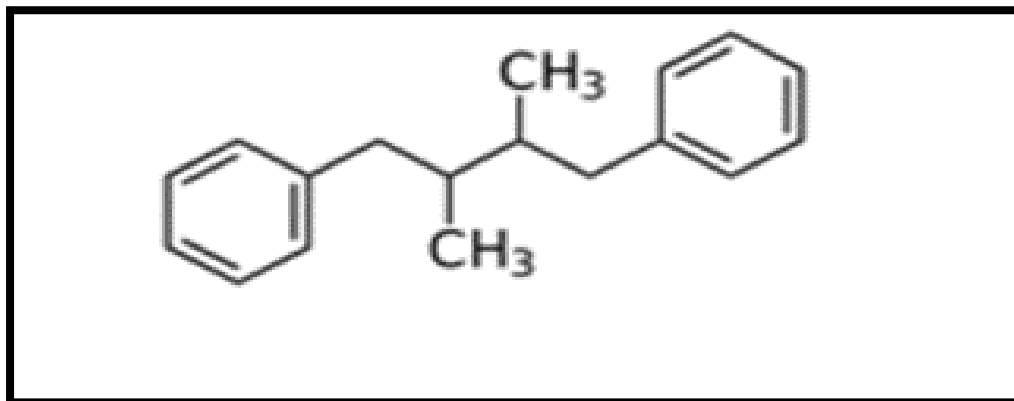


Figure II.12 : Structure de la lignane [61].

II.5. Intérêt des composés phénoliques :

II.5.1. Applications industrielles des polyphénols :

De telles propriétés ont donc été exploitées, et trouvent des applications dans de nombreux domaines industriels : en agroalimentaire, en cosmétique et dans l'industrie pharmaceutique.

Grâce aux propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols, les flavanols et les tanins, il est désormais possible de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques [61].

La capacité antioxydant de composés comme les polyphénols est utilisé dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires. Ils sont également préconisés pour améliorer la stabilité de pigments de jus colorés (comme le jus de betterave), d'arômes alimentaires, et rentrent dans la composition de produits pharmaceutiques pour des utilisations par voie orale et des cosmétiques pour des applications locales [62].

II.5.2. Rôle Chez les végétaux :

En plus de leur rôle structural (lignine), les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, seraient impliqués dans la défense des plantes contre les agressions extérieures (rayon UV, micro-organismes). Ils assurent aussi la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graines [63].

II.5.3. Chez les humains :

Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le Tableau II.2.

Tableau II.2: Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme [29].

| polyphénols | Activite biologique |
|---|---|
| Acide phénols (cinamiques et benzoïques) | Antibactériennes, anti-ulcéreuses antiparasitaires, antifongiques, antioxydantes |
| Coumarines | Protectrices vasculaire, anti-inflammatoires, anti-parasitaires analgésiques et anti oedémateuses. |
| Flavonoïdes | Antitumorales, antiparasitaires, vasodilatatoires, antibactériennes, anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétique, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogénique. |
| Anthocyanes | Protectrices capilaro-veineux, antioxydant |
| Proanthocyanidines | Effets stabilisants sur le collagène, antioxydant, anti tumoral, anti fongique et anti-inflammatoire. |
| Tannins galliques et caté-chique | Antioxydant |
| Lignanes | Anti-inflammatoires, analgésique |

Chapitre III :
L'espèce végétale (l'ail)

III.1. Généralités :

Depuis bien longtemps, l'homme traite ses maux avec les plantes. Parmi celles-ci, l'*Allium sativum* L. bien connu dans les différents continents, comme possédant de nombreux bienfaits en passant par le traitement de l'insuffisance veineuse, l'hypertension, l'action antibactérienne, antioxydant et bien d'autres.

L'ail utilisé comme condiment, est aujourd'hui très consommé et fait partie de la grande famille des liliacées. L'*Allium sativum* se retrouve sous différentes formes galéniques ayant divers composés plus ou moins concentrés. Cependant la synthèse de l'ail reste complexe.

III.2. Définition et caractéristiques de la famille des Alliées :

Les Alliées forment une grande famille de plantes monocotylédones ; souvent bulbeuses, parfois tubéreuses ; ayant généralement des fleurs supères en ombelle, à 6 étamines. Le fruit est une capsule ou une baie. Elle englobe 600 espèces réparties en 30 genres riches en composés soufrés volatils, leur donnant une odeur caractéristique [64]. La famille des Alliées est largement distribuée dans les régions tempérées à tropicales ; communes dans les habitats semi-arides [65].

Le genre *Allium* est le plus grand et le plus important représentant de la famille des Alliées. Les espèces du genre *Allium* sont largement répandues dans les régions qui ont une saison sèche ,Outre l'ail et l'oignon qui sont les espèces les mieux connues, plusieurs autres espèces sont largement cultivées pour usage culinaire, comme le poireau (*Allium porrum* L.), la ciboule (*Allium fistulosum*L.), l'échalote (*Allium scaberrimum*Hort.), l'ail des ours (*Allium ursinum*L.), l'ail éléphant (*Allium ampeloprasum* L.), la ciboulette (*Allium schoenoprasum*) et la ciboulette chinoise (*Allium tuberosum*L.) [66].

Auparavant, le genre *Allium* faisait partie de la famille des Liliacées et plusieurs botanistes le rangent encore dans cette famille, mais d'après l'APG III (2009) de nombreux botanistes rangent ce genre dans la famille des Alliées [67].

Les composés soufrés sont les plus abondants et les mieux connus des composés secondaires des *Alliums*, qui synthétisent également d'autres composés secondaires comme des saponines.

La plupart des activités biologiques liées aux *Allium* sont cependant dues à des substances volatiles dérivées de ses acides aminés. Celles-ci sont émises lors de la destruction des cellules. Les acides aminés précurseurs sont alors mis en présence d'une enzyme, l'alliinase ou alliinase lyase, qui provoque, après la coupure de la liaison C-S, la synthèse de toute une série de composés soufrés volatils et non volatils et des composés non soufrés volatils et non volatils et des composés non soufrés [68].

De leur côté, des chercheurs s'affirment la présence des stérols et des glycosides astéroïdaux dans diverses espèces d'*Allium*, surtout dans les bulbes et les feuilles d'oignon. Ces auteurs ont signalé que la concentration des saponines est de 0,1% dans le poireau et 0,095% dans l'oignon, 0,021% dans l'ail.

III.3. *Allium sativum* (l'ail) :

III.3.1. Origine :

Indigène de Sibérie, l'ail a conquis l'Europe via l'Orient. C'est l'une des plus anciennes cultures à laquelle maints documents chinois, égyptiens, grecs ou romains ont fait allusion. Au Mexique, l'ail se vendait déjà lorsque Cortès envahit le pays en 1519 [69]. De nos jours, il est cultivé partout dans le monde pour des usages culinaires.

III.3.2. Classification de l'espèce *Allium sativum*. L :

D'après le système d'Arthur Cronquist ("Classification des Angiospermes selon Cronquist) :

Tableaux III.1: Classification de l'espèce *Allium sativum*. L [70].

| Règne | Plantae (=végétaux) |
|--------------------|--|
| Sous règne | <i>Trachéobionata</i> (= végétaux vasculaires) |
| Embranchement | <i>Magnoliophyta</i> (spermaphytes) |
| Sous embranchement | <i>Magnoliophytina</i> (= angiospermes) |
| Classe | <i>Liliopsida</i> (= Monocotylédones) |

| | |
|-------------|-------------------------|
| Sous classe | <i>Liliidae</i> |
| Ordre | <i>Liliaceae</i> |
| Famille | <i>Liliacées</i> |
| Genre | <i>Allium</i> |
| Espèce | <i>Allium sativum</i> L |

III.3.3. Appellation vernaculaire : On l'appelle en :

Français : Ail commun, ail cultivé thériaque des pauvres ;

Allemand : Knoblauch, Knobloch, krobli, knoblichknofel, kofel, knufloch, windwurz, weingartenknoblauch ; Ang : garlic, commongarlic.

Espagnol : Ajo, ajocomun, ajovulgar.

Italien : Aglio, agliocomune.

Arabe : الثوم [70].

III.3.4. Description botanique :

Herbacée pouvant atteindre 25 à 90cm de haut et dont la tige est contournée avant la floraison, elle est vivace par son bulbe formé d'un assemblage de petits bulbes ou caïeux, qui sont ovales et allongés ou arrondies. Ces caïeux sont comprimés les uns contre les autres, l'ensemble étant enveloppé dans une mince tunique membraneuse, de couleur variable (blanchâtre, verdâtre, rosée, pourpre, violette).

Les fleurs sont formées de 6 sépales pétaloïdes, blanc rosé ou verdâtre, et de 6 étamines. Les anthères sont fixées dorsalement et les filets élargis à la base. Les fleurs sont généralement stériles (sauf quelques formes asiatiques) [71].



Figure III.1: *Allium sativum* (l'ail) [70].

(A : les feuilles ; B : in floraison ; C : bulbe d'ail; D : les gousses d'ail).

III.3.5. Différentes espèces :

Le genre *Allium* est le plus répandu, avec 600-900 espèces. Il existe différentes variétés de l'ail, *Allium sativum* qui se diffère par la taille, la forme du bulbe, ou encore par la couleur de l'enveloppe [70].

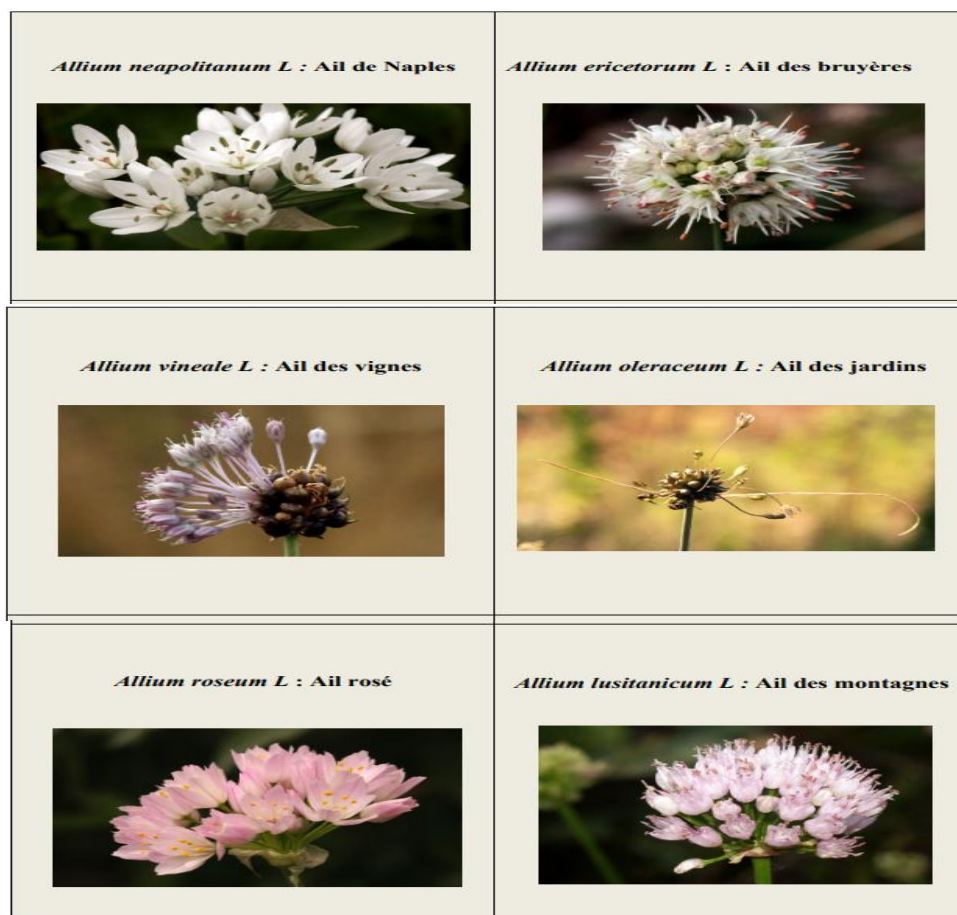


Figure III.2 : Quelques exemples d'espèces ornementales du genre *Allium* [72].

III.3.6. Culture :

L'ail préfère les sols argileux, profonds, riche en humus et en nutriments, ensoleillés, une plante supportant l'hiver rude. L'ail ne doit pas être cultivé dans le même terrain plusieurs années de suite : une périodicité d'au minimum 5ans. Se multiplie par voie végétale grâce à ces caïeux et bulbilles, planté en septembre et à mi-octobre pour les variétés d'hiver [70].

III.3.7. La composition chimique de l'ail :

III.3.7.1. Les principaux composés actifs de l'ail :

L'ail renferme notamment des composés soufrés (teneur variable selon le cultivar, l'origine géographique, l'époque de la récolte [73]. Il contient quatre constituants la 5-allylcystéine, la 5-allylmercaptocystéine, l'alliine et l'allicine possédant de propriétés antioxydants [74].

Outre les composés organo-soufrés, l'ail contient des glucosides stéroïdiens, des lectines, des prostaglandines, des fructanes, des pectines, une huile essentielle, des vitamines (B1, B2, B6, E), de la biotine, de l'acide nicotinique, des acides gras, des glycolipides, des phospholipides, des anthocyanosides, des flavonoïdes, des acides aminés essentiels [70].



Figure III.3 : Représentation graphique de la composition d'un bulbe d'ail [75].

Le bulbe d'ail frais est composé approximativement 65% d'eau (contre plus de 85% pour la plupart des légumes frais), 28% de glucides, 2,3% de composés soufrés, 2% de protéines, 1,2% d'acides aminés et 1,5% de fibres. La consommation de 100 grammes d'ail cru apporte 149 calories [76].

III.3.7.2. La composition des dérivées de d'ail :**a. L'huile essentielle d'ail :**

L'huile essentielle d'ail est obtenue par distillation. Une gousse d'ail contient 0,2 à 0,5% d'huile essentielle, avec de nombreux composés soufrés comme le disulfure de diallyle ou le trisulfure de diallyle. Les gousses d'ail sont d'abord broyées dans l'eau puis distillées ou extraites grâce à un solvant organique, comme l'hexane qui permet d'obtenir la fraction d'huile. Les composés solubles dans l'eau, y compris l'allicine, sont éliminés. Des capsules d'ail sont disponibles contenant de l'huile végétale avec une petite quantité d'huile essentielle, puisque l'odeur est très prenante [77].

b. La poudre d'ail :

La poudre d'ail déshydratée est généralement utilisée comme condiment dans les aliments. Les gousses d'ail doivent être pulvérisées, broyées, séchées pour en extraire la poudre. Le principal composé contenu dans la poudre d'ail et dans l'ail frais est l'alliine. Elle contient certains constituants similaires à ceux de l'ail cru, même si les concentrations peuvent varier considérablement. De plus, l'inactivation de l'alliinase se fait lorsque le pH est inférieur à 3 [77]. Il est totalement décomposé à 20°C en 20 heures [78].

c. Le macérât :

L'extrait d'huile d'ail est également utilisé comme condiment. Le macérât d'huile est fait de mélanges de gousses d'ail entièrement broyées encapsulées dans l'huile végétale. Pendant le processus de fabrication, l'alliine peut être convertie en allicine. Comme l'allicine est instable, il se décompose rapidement, le macérât contient principalement des composés tels que les vinyldithiines, les ajoènes [77].

d. L'extrait d'ail vieilli :

Une solution d'extraction composée d'eau distillée et diluée dans 15-20% d'éthanol doit être utilisée pour extraire l'ail dit vieilli [77]. Cet extrait doit être âgé d'au moins 10 mois à température ambiante, Ce stockage conduit à une altération de la composition de l'ail, Pendant ce processus, l'odeur, les composés irritants sont convertis en composés soufrés stables et sûrs. Les composés d'AGE sont des composés solubles dans l'eau et une petite quantité de composé soluble dans l'huile. Les composés solubles dans l'eau sont S-Allyle-Cystéine et S-Allyle Mercapto cystéine, avec une perte importante de l'activité de l'allicine.

L'extrait d'ail vieilli est très utilisé. Principalement la SAC qui est le premier composé organo soufré soluble dans l'eau, celui-ci peut être détecté dans le sang, le rein et le foie. Il est sans odeur et possède une très bonne stabilité et possède de nombreux effets bénéfiques pour la santé contrairement à l'allicine qui ne se retrouve pas dans le sang. Les ajoènes et les vinyl dithiines ne sont pas retrouvés dans l'extrait d'ail vieilli [77].

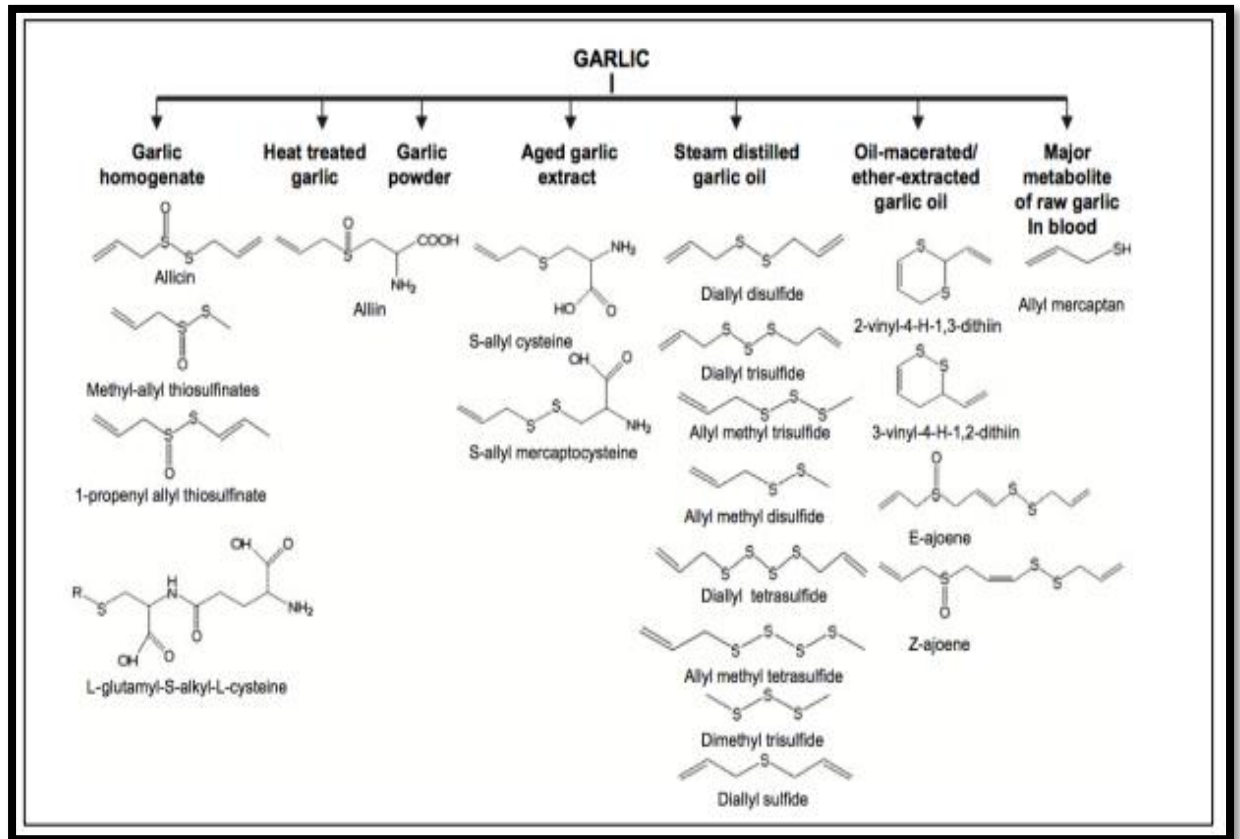


Figure III.4 : Schéma résumant les majeurs constituants présents dans les différentes préparations possibles d'ail [79].

III.3.8. Les principales propriétés de l'ail à but thérapeutique :

L'ail a la réputation d'être antiseptique, hypotenseur, hypoglycémiant, antirhumatismal, anti-helminthiasique, antimalarien, coricide, balsamique, rubéfiant carminatif. Il est communément utilisé en médecine populaire pour faciliter la circulation, équilibrer la pression artérielle, stimuler le cœur et corriger une dyslipidémie [74].

- Activités hypocholestérolémiante, hypolipémiante, hypotensive, hypoglycémiant et anti thrombotique : l'ail a un effet global sur le système cardio-vasculaire, en agissant sur la pression artérielle, sur la balance des lipides, l'agrégation plaquettaire

(les ajoènes principalement, et les vinyldithiines), l'activité fibrinolytique et l'oxydation.

- Activité anti bactérienne, anti fongique, anti parasitaire et anti virale.
- Activité sur les atteintes articulaires et inflammatoires : Le DADS inhibe l'expression des protéases responsables du déséquilibre dans la structure des chondrocytes, en protégeant alors les patients atteints d'ostéoporose. De plus ils sont capables d'inhiber le processus d'assemblage et de désassemblage du cytosquelette [80]. Ayant également un effet anti inflammatoire, qui serait dû à son action anti prostaglandine. Les composés soufrés anti inflammatoires de l'ail sont les Z- et E-ajoène. En effet ils inhibent la production de l'oxyde nitrique (NO) et la prostaglandine E2 ainsi que l'expression des cytokines pro inflammatoires du TNF α , de l'interleukine 1B, interleukine 6 et des lipopolysaccharides (LPS) activés par les macrophages [81].
- Activités anti oxydative et anti cancérogène : D'après certaines études scientifiques, l'action de l'ail est un puissant antioxydant. En effet, l'extrait d'ail vieilli possède la meilleure activité anti oxydante, qui peut agir dans les effets néfastes de la pollution [79]. Il est composé du SAC et du SAMC qui vont agir comme antioxydant avec un effet immun modulateur [80], il a une protection sur le foie et sur les cellules nerveuses, puisqu'il renferme des composés piègeurs de radicaux libres tels que la SAC et la SAMC [70]. La SAC possède une activité de chemo prévention. Mais les composés soufrés comme le DAS, DADS, DATS ont également des propriétés anti tumorales. En effet ils inhibent la prolifération cellulaire et diminuent la stimulation hormonale [81]. Le trisulfure de diallyle est un antioxydant, un anti inflammatoire et un anti carcinogène avec une action dans les cellules. Ils induisent l'apoptose des cellules humaines cancéreuses. De plus, l'ail contient du sélénium qui possède une action anti cancérogène, agissant particulièrement dans le contrôle des gènes.

Etude expérimentale

Chapitre IV :

Matériels et Méthodes

IV.1. Matériels :

IV.1.1. Matière végétal et échantillonnage :

IV.1.1.1. Récolte de la plante :

L'ail a été récolté dans son habitat naturel dans la wilaya (Ain defla, Algérie), durant la mi-mai à la fin juin 2018. Le matériel végétal (les bulbes de l'ail) récolté est ensuite séché à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil. Une fois séché, les bulbes de l'ail ont été broyés à l'aide d'un mortier, puis soumis à l'extraction.

IV.1.1.2. Extraction par macération :

C'est une méthode traditionnelle couramment employée et qui consiste en la mise en contact de la matière végétale avec le solvant avec ou sans agitation, à T ambiante ou T élevé pour une durée déterminée. Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature de la matière végétale, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant et la durée d'extraction.

IV.1.1.3. Préparation des extraits :

L'ail qui sera utilisé sera mélangé à de différentes proportions de sel (0, 2.5, 5, 10, 20 %).

- **Extraction par macération à froid** : Peser 10 g de l'ail broyée, et mélangé avec les différentes concentrations de sel, et ajouté 50 ml d'eau distillée, pendant une durée (24 h) à température ambiante. Les extraits ont été filtrés sur un papier filtre Wattman et conservés à 4 °C jusqu'à analyser.
- **Extraction avec de l'eau chaude** : Peser 10 g de l'ail broyée et ajouté 50 ml d'eau distillé. Chauffer le mélange dans un bain-marie pendant 1 heure à partir de l'ébullition puis laisser le mélange refroidir à la température ambiante à la fin filtrés les extraits.
- **Extraction par macération dans l'éthanol aqueux** : Peser 5 g de l'ail broyée et ajoutée 100 ml de solution éthanoïque (80 ml éthanol, 20 ml l'eau) puis laisser macérer pendant 24 h à température ambiante. Les extraits ont été filtrés sur un

papier filtre Wattman puis évaporé ethanol par rotavapor à 65 °C. Conserve les extraits à 4 °C jusqu'à analyser.

- **Extraction direct par de l'eau :** Peser 10 g de l'ail broyée avec le sel et ajouté 50ml d'eau distillée à température ambiante bien mélanger ensuite filtrer avec de papier filtre Wattman, conserve l'extrait à 4 °C jusqu'à analyse.
- **Extraction directe par la solution hydroéthanolique :** Peser 5 g de l'ail broyée et ajoutée 100 ml de solution éthanoïque (80 ml éthanol, 20 ml l'eau) bien mélanger puis Les extraits ont été filtrés sur un papier filtre Wattman puis évaporé ethanol par rotavapor à 65 °C. Conserve les extraits à 4 °C jusqu'à analyser.

Il faut que pour chaque échantillon préparé, mesurer le pH ainsi que mettre en évidence tous les changements qui peuvent avoir lieu pour chaque méthode de traitement et d'extraction et pour le temps tels que (la couleur, l'aspect, ...)

IV.1.2. Produits et réactifs chimique :

-Les réactifs chimiques :

- Le réactif Folin-Ciocalteu.
- Le réactif DPPH.

-Les différents acides sont :

- Acide gallique $C_7H_6O_5$.

-Les sels sont :

- Carbonate de sodium Na_2CO_3 .
- Chlorure de sodium Na cl.

-Les solvants organiques utilisés :

- Ethanol

IV.1.3. Appareils :

- pH-mètre Hanna.
- Rotavapor.

- Spectrophotomètre UV-Visible.
- Bain marié.
- Balance analytique.

IV. 2. Méthodes :

IV.2.1. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols :

La caractérisation quantitative des différentes phases de la plantes a été réalisée de la manière suivante :

IV.2.1.1 : Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu été décrit en 1965 par Singleton et Rossi. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

➤ Principe :

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phospho tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [82].

➤ Méthode de dosage :

1ml d'extrait végétal dilué dans 5ml d'eau distillée et 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Après 3 minutes, ajouté 0.5 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) 20 %. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 5 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm.

Les concentrations en phénols totaux solubles sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par g matière sec (mg EAG/g MS).

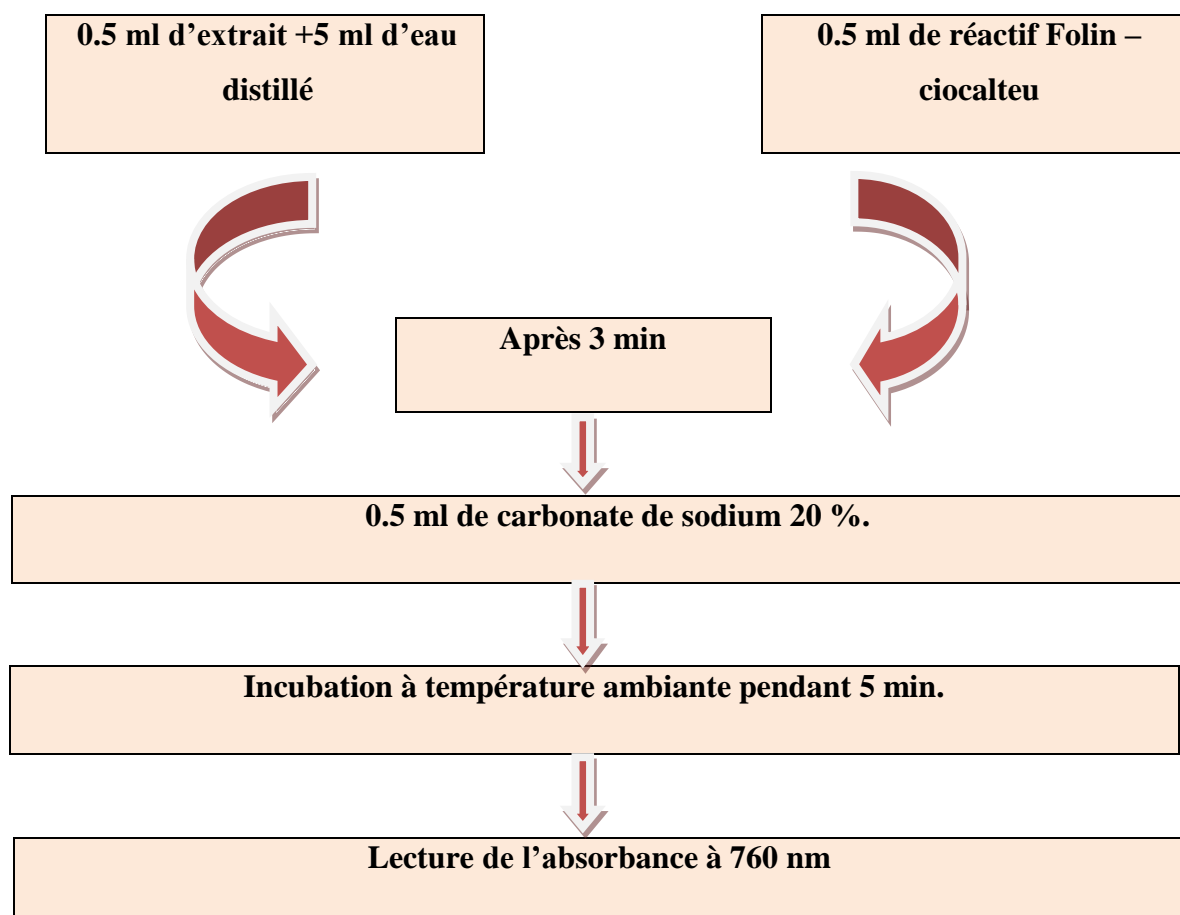


Figure IV.1: Protocole de dosage des phénols totaux soluble.

IV.2.2. Méthodes de dosage des activités antioxydantes :

IV.2.2.1. Test au DPPH :

➤ Principe :

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables.

Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH[•] donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH[•] par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution [83]. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517 nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée [84].

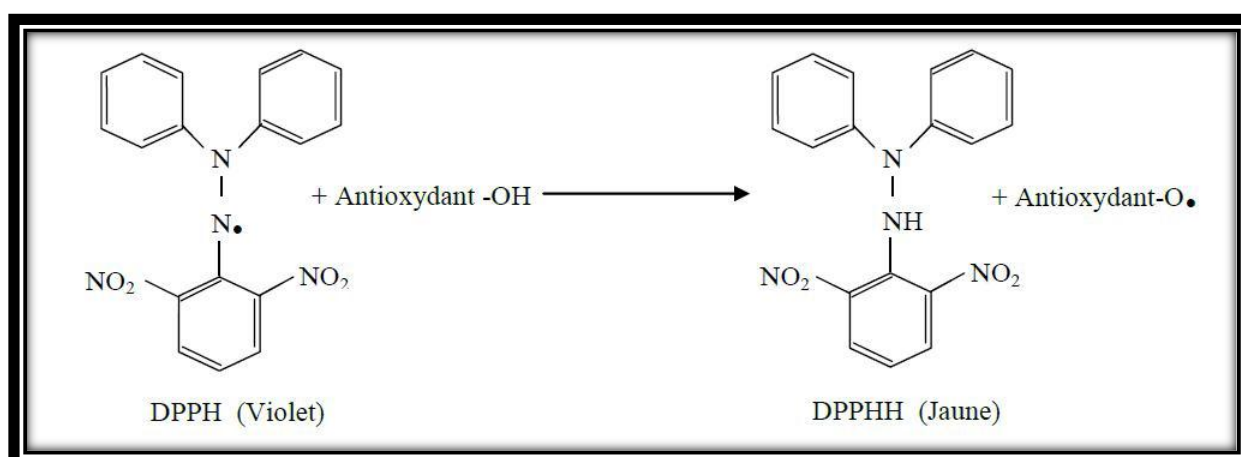


Figure IV.2 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH-H [84].

DPPH: diphenyl picryl-hydrazyl (forme oxydée)

DPPH-H : diphenylpicryl-hydrazine (forme réduite)

Notons que compte tenu de la solubilité en milieu organique du DPPH, cette méthode est plus adaptée pour les dosages qui se déroulent en milieu alcoolique (méthanol et éthanol).

➤ **Méthode de dosage :**

1 ml d'une solution éthanoïque de DPPH (0,002 g DPPH +100 ml éthanol) a été mélangé avec 1ml de différentes concentrations de sel des extraits de plante (0,2.5, 5, 10, 20 %). Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1ml de la solution de DPPH et de 1ml d'éthanol.

La capacité antioxydant de nos échantillons exprimés en pourcentage réduction de DPPH est donnée par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction DPPH} = \frac{D_{o_{\text{cont}}} - D_{o_{\text{ech}}}}{D_{o_{\text{cont}}}} * 100$$

$D_{o_{\text{cont}}}$: Densité optique de DPPH sans antioxydant.

$D_{o_{\text{ech}}}$: Densité optique de DPPH en présence de l'extrait.

Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un Antioxydant fort.

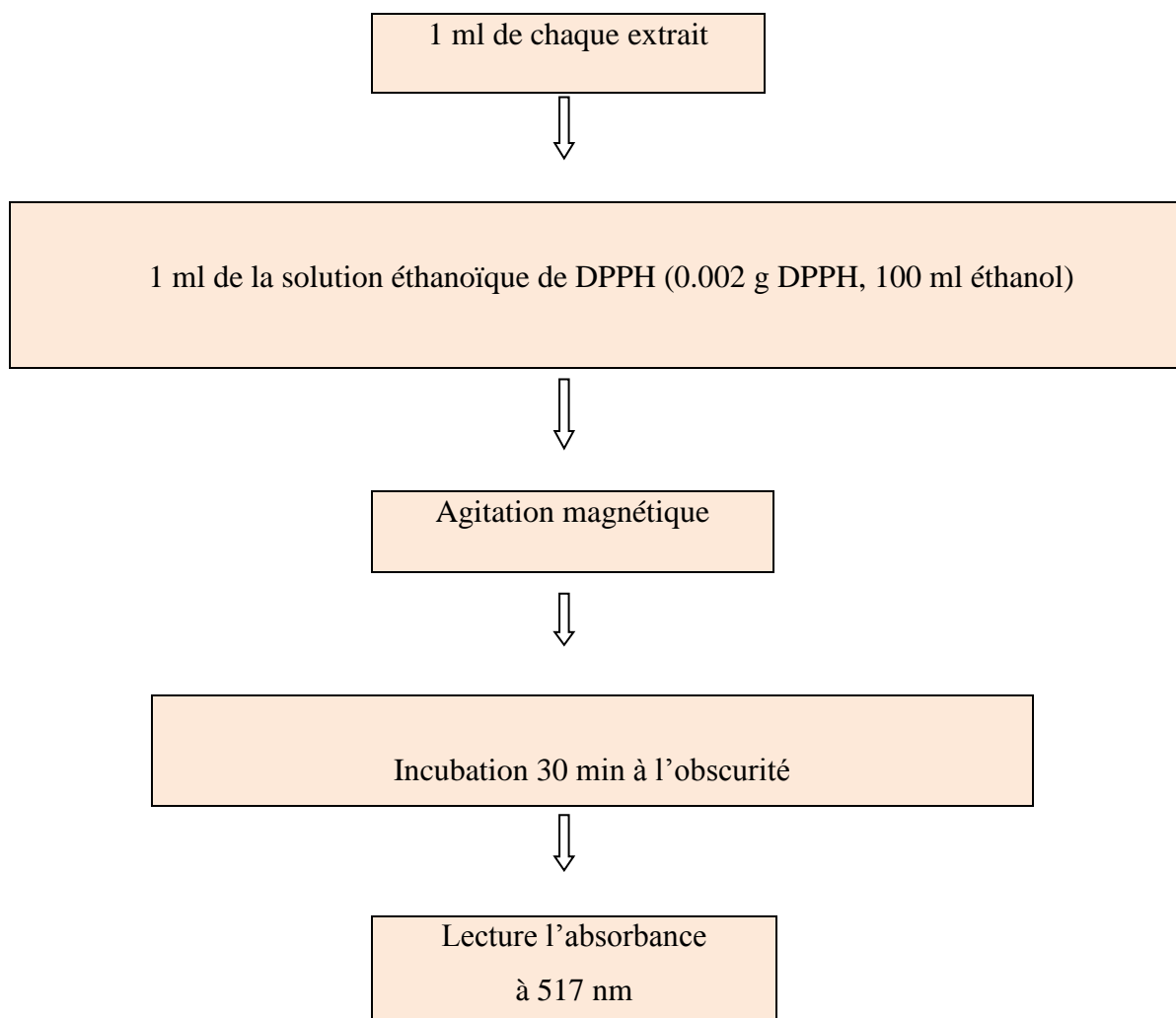


Figure IV.3 : Protocol de test DPPH.

Chapitre V :

Résultat et discussion

V.1 Etude comparative de la composition polyphénolique totale dans l'ail frais :

V.1.1 détermination de la Teneur en polyphénols totaux :

La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour chaque extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique (l'équation standard de courbe : $y = 3.5491x + 0.0372$; $R^2 = 0.9963$) (annexe 13). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait sec (mg EAG/g MS). En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage représente une productibilité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme étalon, $R^2 = 0.9963$ [85].

Les absorbances de l'acide gallique correspondantes aux solutions de concentrations (annexe 12).

Tableau V.1 : Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits.

| [C%] <i>sel</i> | 0 | 2.5 | 5 | 10 | 20 |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| Extraction par la solution hydro-éthanolique | | | | | |
| Absorbance nm | 0.384 | 0.964 | 1.896 | 1.402 | 1.305 |
| Teneur PPT mg EAG/gMS | 0.2 | 5.2 | 10.4 | 7.6 | 7.2 |
| Macération dans la solution hydro-éthanol pendant 24 H | | | | | |
| Absorbance nm | 1.231 | 0.477 | 1.327 | 1.220 | 0.814 |
| Teneur PPT mg EAG/gMS | 6.8 | 2.4 | 7.2 | 6.6 | 4.4 |
| Extraction à l'eau froide | | | | | |
| Absorbance nm | 0.178 | 0.139 | 0.148 | 0.103 | 0.118 |
| Teneur PPT mg | 0.03 | 0.16 | 0.22 | 0.165 | 0.15 |

| | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| EAG /gMS | | | | | |
| Macération à l'eau froide pendant 24 H | | | | | |
| Absorbance nm | 0.138 | 0.116 | 0.221 | 0.252 | 0.132 |
| Teneur PPT mg EAG/gMS | 0.14 | 0.11 | 0.255 | 0.3 | 0.13 |
| Extraction à l'eau chaude | | | | | |
| Absorbance nm | 0.202 | 0.310 | 0.157 | 0.127 | 0.140 |
| Teneur PPT mg EAG/gMS | 0.165 | 0.37 | 0.32 | 0.135 | 0.1 |

V.1.2. L'effet de la concentration en sel :

Le dosage des phénols totaux a été réalisé par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu, tel que décrit dans le chapitre matériel et méthodes. Les valeurs présentées sur les histogrammes sont données pour différentes concentrations en sel [0 ,2.5 ,5 ,10 ,20 %].

En utilisant l'éthanol aqueux comme solvant, les figures (V.1 et V.2) montrent que la teneur de la solution en PPT change d'une manière significative avec la composition de la solution en sel. L'éthanol dissout les polyphénols de l'ail est donne une meilleure teneur de (10.4 mg EAG/g MS et 7.2 mg EAG/g MS) pour une concentration en sel égale à 5 % et ce résultat est vérifié pour la macération pendant 24 heures.

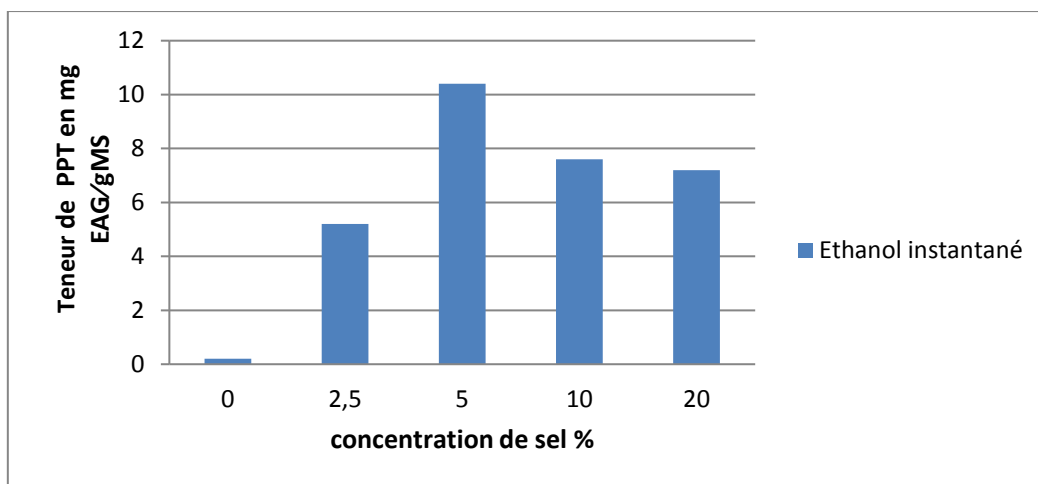


Figure V.1 : Teneur de polyphénols totaux extraits par la solution hydro-éthanolique.

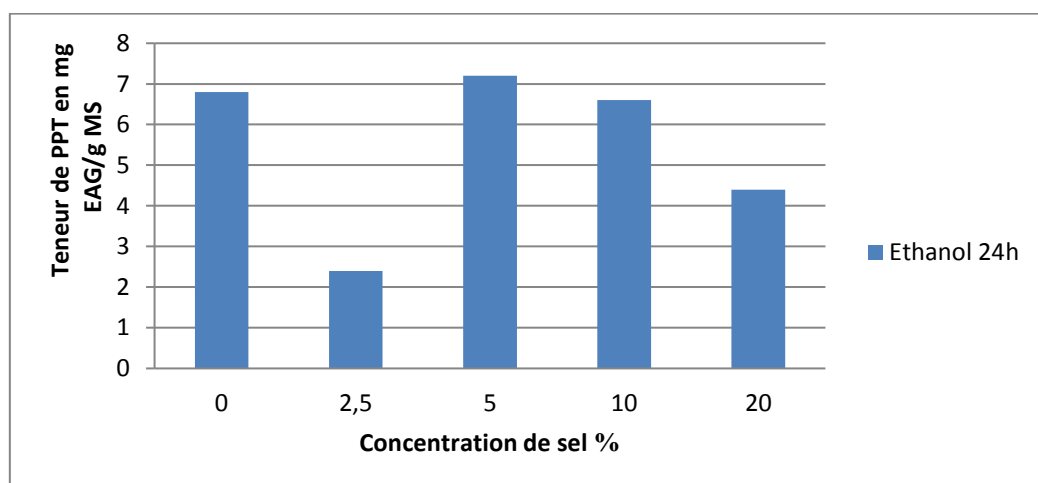


Figure V.2 : Teneur de polyphénol extrait par macération dans la solution hydro-éthanolique pendant 24 heures

En changeant le solvant, en utilise l'eau froide et chaude et pour différent temps de macération (24 heures et immédiatement). La composition en sel influe d'une manière significative sur l'extraction des polyphénols totaux. Et comme montres les figures (V.3, V.4 et V.5) pour l'eau chaude, la concentration de sel qui favorise l'extraction est égale à 2,5 et 5 %. Et de 5 et 10% pour l'eau froide pour les deux modes d'extraction.

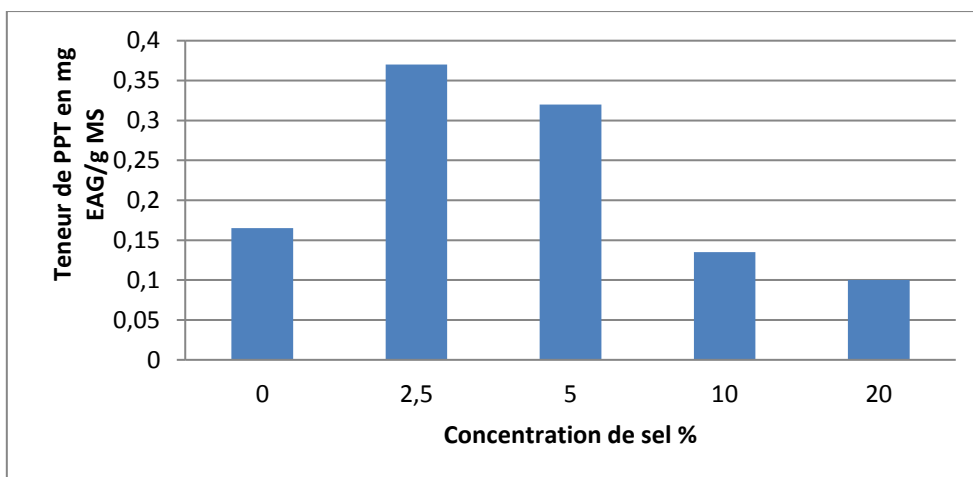


Figure V.3 : Teneur de polyphénol dans fraction extrait par macération dans l’eau chaude pendant 24 heures

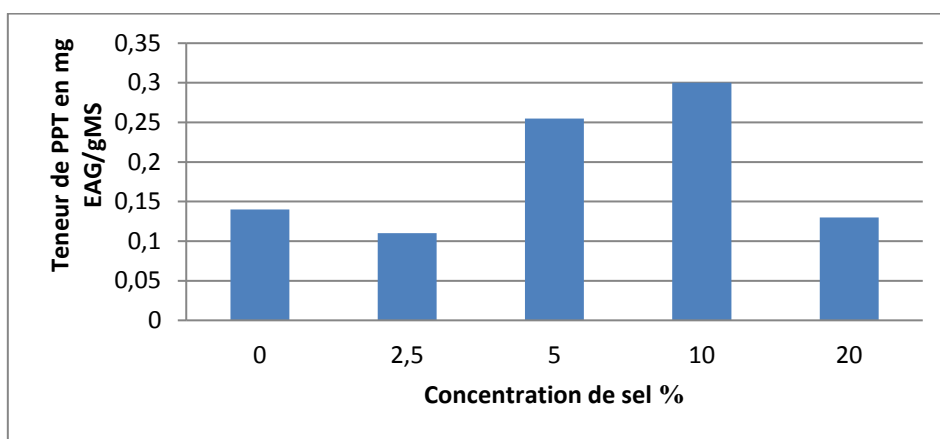


Figure V.4 : Teneur de polyphénol dans fraction extrait par macération dans l’eau froide pendant 24 heures

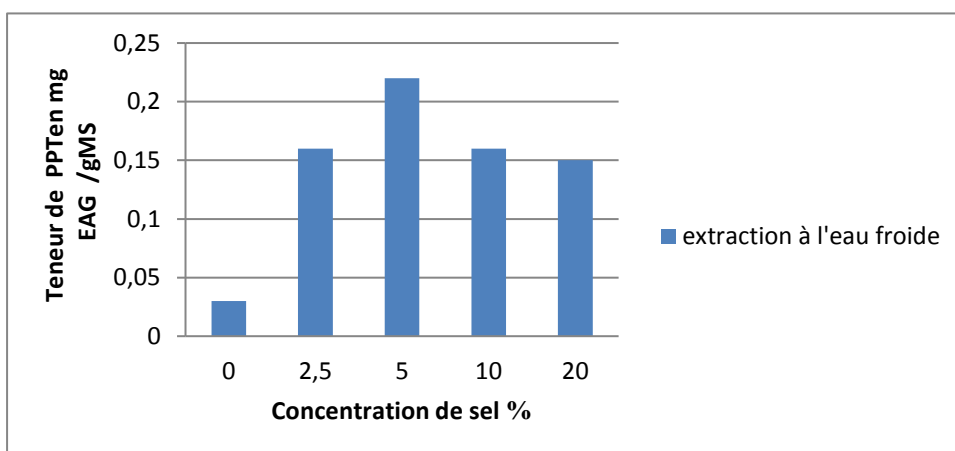


Figure V.5: Teneur de polyphénols totaux par extraction à l’eau froide.

D'après cette étude pour tous les solvants utilisés et pour les différents temps de contact nous pouvons dire que la quantité de sel optimal est de 5 % en moyenne.

V.1.3 L'effet de la nature de solvant :

Dans cette partie nous mettrons en évidence l'effet de la nature de solvant sur le rendement en polyphénol totaux. Pour ce faire nous nous sommes intéressés à l'eau (chaude et froide) ainsi qu'à un mélange éthanol -eau (80 % éthanol).

Les résultats obtenus dans cette étude sont très intéressants, et ils sont montrés dans les figures ci- dessous :

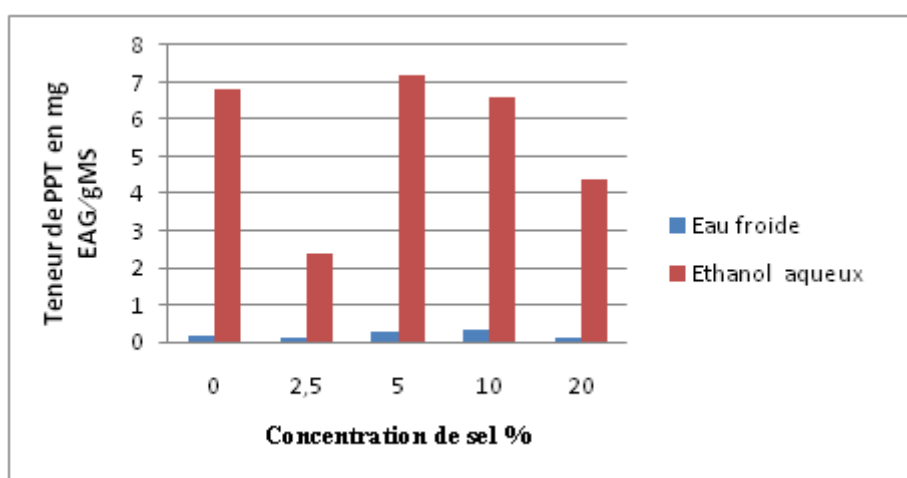


Figure V.6 : Teneur de polyphénols totaux extraits par macération dans l'eau et la solution hydro-éthanolique aqueux pendant 24 h.

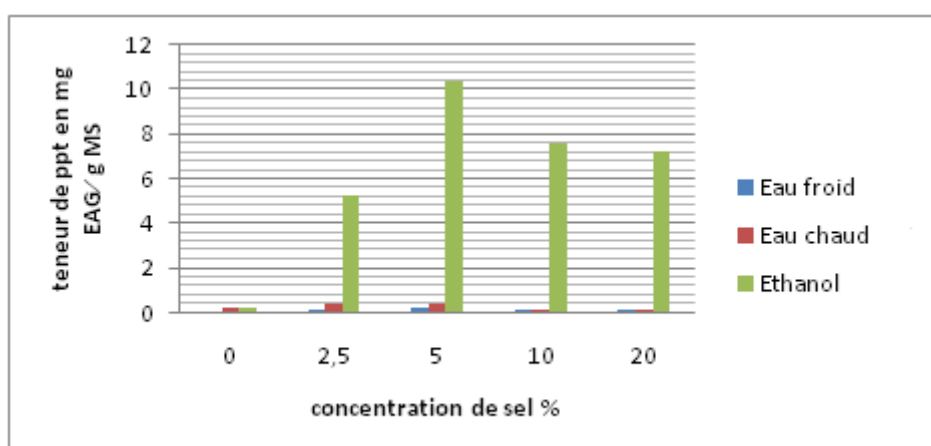


Figure V.7 : Teneur de polyphénols totaux extraits par l'eau chaude, l'eau froide et la solution hydro-éthanolique.

- Le rendement de l'extraction par macération dans l'éthanol aqueux est nettement supérieur au rendement de la macération dans l'eau froide, ceci montre que les polyphénols sont solubles dans l'eau et dans l'éthanol aqueux, mais nettement mieux dans l'éthanol aqueux. Les substances moins polaires (dérivés d'acide phénoliques) ne sont pas isolées quantitativement en utilisant l'eau pure comme solvant d'extraction [86]. L'extraction par l'eau pure mène à un extrait ayant une teneur élevée en impureté (acides organique, glucides, protéines solubles) qui peuvent interférer dans le dosage des composés phénoliques [87].

Les acide phénolique très polaires (acides benzoïques et cinnamiques) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvant organique purs, les mélanges alcool-eau sont recommandés [86]. L'utilisation de l'eau en combinaison avec des solvants organiques contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des composés phénolique [88.89].

- La solubilité des composés phénolique est influencée par le type de solvant utilisé. Cependant, ces derniers sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylle, lipides, composés inorganiques,.....) [90. 91].
- On a démontré que le solvant le plus efficace pour extraire les polyphénols à partir de plante d'ail est l'éthanol aqueux suivie eau.

V.1.4. Etude de l'effet de mode d'extraction :

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal. Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée. Dans ce travail, nous avons utilisé trois méthodes d'extraction : Extraction par macération (éthanol aqueux, 80 %), extraction avec de l'eau chaude (décoction), et extraction par de l'eau froide à température ambiante

En prenant l'eau comme solvant, on a étudié l'extraction à température ambiante et dans une eau bouillante. Les résultats présentés sur la (**figure V.8**) montrent que la meilleure teneur est donnée pour l'eau chaude (0.37 mg EAG/g MS) pour une concentration en sel de 2,5 % et même (0.32 mg EAG/g MS) pour une concentration de

5 % en sel l'augmentation de la température favorise l'extraction. Par contre pour des taux élevés en sel il est préférable de faire l'extraction à température ambiante que de la faire par décoction.

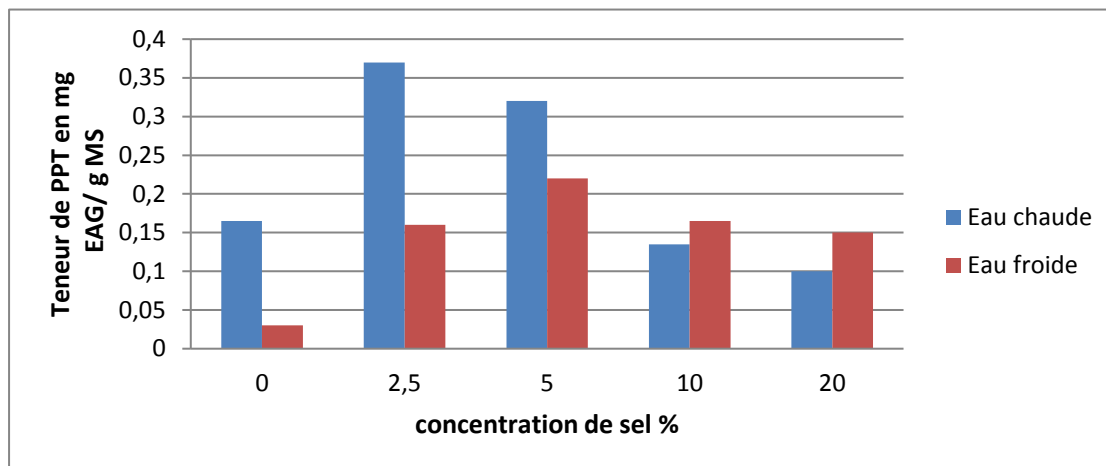


Figure V.8 : Teneur de polyphénol par extraction par de l'eau chaude et froide.

Par contre pour le mélange éthanol -eau, les résultats obtenus pour l'extraction le rendement est meilleur que dans le cas de la macération sur tous dans le cas où nous ajoutons du sel à la solution. (Figure V.9).

La progression de temps d'extraction peut diminuer la teneur en composé phénolique de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols.

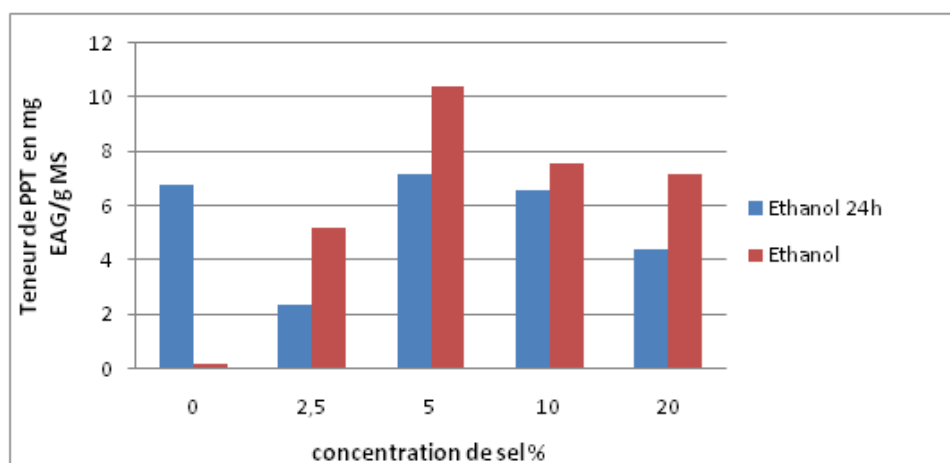


Figure V.9: Teneur de polyphénol obtenu par extraction et macération pendant 24 h dans la solution hydro-éthanolique.

D'après les résultats. On peut constater que tous les extraits de la plante étudiés, sont riches en polyphénols mais avec des quantités différentes qui dépendent très fortement de la méthode d'extraction, de solvant, et aussi l'ajout de sel à des taux bien définis est bénéfique pour le rendement de l'extraction. Ceci est probablement du à différent facteurs comme la complexité de ces composés.

V.1.6.Variation de PH :

(La figureV.10) montre l'évolution du pH en fonction de la concentration de sel dans la solution. La valeur de pH varie de [6.55 à 6.13] respectivement pour la serie 1 et 2 ou on utilise l'eau comme solvant. Et de [5.40 à 4.85] pour la serie 3 et 4 ou l'éthanol est le solvant.

Plusieurs travaux ont montré que la valeur de PH peut affecter la formation des composés volatiles, en particulier thiosulfonates et par conséquent leur libération après la lésion des gousses. Les polyphénols sont des composés très instables.

On conclut que les polyphénols dans l'extrait éthanolique est stable à un pH de [4 à 6], les meilleurs résultats obtenus dans le cas de ce solvant, c'est où le pH est proche de 5. L'autre constatation qu'on a pu faire c'est que lorsque l'ail reste en solution pour des périodes prolongées, le cas de la macération, le pH de la solution diminue, ce qui n'est pas le cas lorsque qu'on utilise l'eau comme solvant. Dans l'extrait aqueux la stabilité est meilleure à un pH de [6 à 7]; pour un meilleur rendement le pH doit être plus proche de la valeur de 6, à pH inférieur ou supérieur par rapport à ces valeurs les polyphénols se dégradent. Les polyphénols dans l'eau peuvent être conservés pendant 5 jours sans dégradation évidente [91].

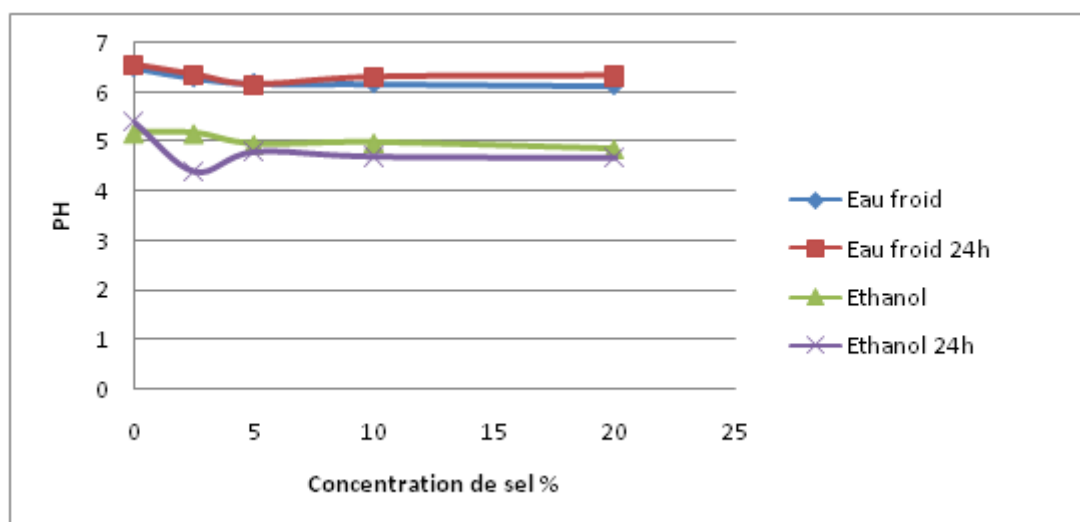


Figure V.10 : Variation de PH en fonction de concentration de sel.

V.2.Méthodes de dosage des activités antioxydants :

V.2.1. Pouvoir antiradicalaire des extraits de L'ail sur le DPPH :

Les extraits de bulbes d'ail sont également évalués pour leur activité antioxydante. Le radical DPPH. Est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse.

Tableau V.2: Réduction de DPPH dans les différents extraits.

| [C %] Sel | 0 | 2.5 | 5 | 10 | 20 |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| Extraction par la solution hydro-éthanolique | | | | | |
| Absorbance nm | 0.054 | 0.037 | 0.053 | 0.469 | 0.073 |
| Réduction de DPPH (%) | 94.15 | 95.99 | 94.26 | 49.19 | 92.09 |
| Macération dans la solution hydro-éthanolique pendant 24 H | | | | | |
| Absorbance nm | 0.020 | 0.177 | 0.188 | 0.283 | 0.814 |
| Réduction de DPPH (%) | 97.83 | 80.82 | 79.63 | 69.33 | 30.99 |
| Extraction à l'eau froide | | | | | |
| Absorbance | 0.136 | 0.507 | 0.276 | 0.789 | 0.340 |

| | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| nm | | | | | |
| Réduction de DPPH (%) | 85.27 | 45.07 | 70.10 | 14.52 | 63.16 |
| Macération dans l'eau froide pendant 24 H | | | | | |
| Absorbance nm | 0.407 | 0.459 | 0.898 | 0.900 | 0.808 |
| Réduction de DPPH (%) | 55.90 | 50.27 | 27.09 | 24.92 | 12.46 |
| Extraction par l'eau chaude | | | | | |
| Absorbance nm | 0.202 | 0.310 | 0.157 | 0.127 | 0.140 |
| Réduction de DPPH (%) | 78.11 | 66.41 | 82.99 | 86.24 | 97.83 |

Nous avons étudié le pouvoir des extraits de L'ail sur le piégeage de radical libre DPPH. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de graphes de Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations en sel [0, 2.5, 5, 10, 20 %].

En utilisant hydro-éthanolique comme solvant, la (figure V.12) montre que la réduction de la solution en DPPH change d'une manière significative avec la concentration de sel. L'extraction par hydro-éthanolique a montré l'activité la plus élevée par rapport à la macération hydro-éthanolique pendant 24 h. Pour 2.5 % de sel, la fraction hydro-éthanolique instantané a atteint un pourcentage de réduction 95.99 %. À cette même concentration la fraction hydro-éthanolique a présente le plus faible pourcentage de réduction de 80.82 %.

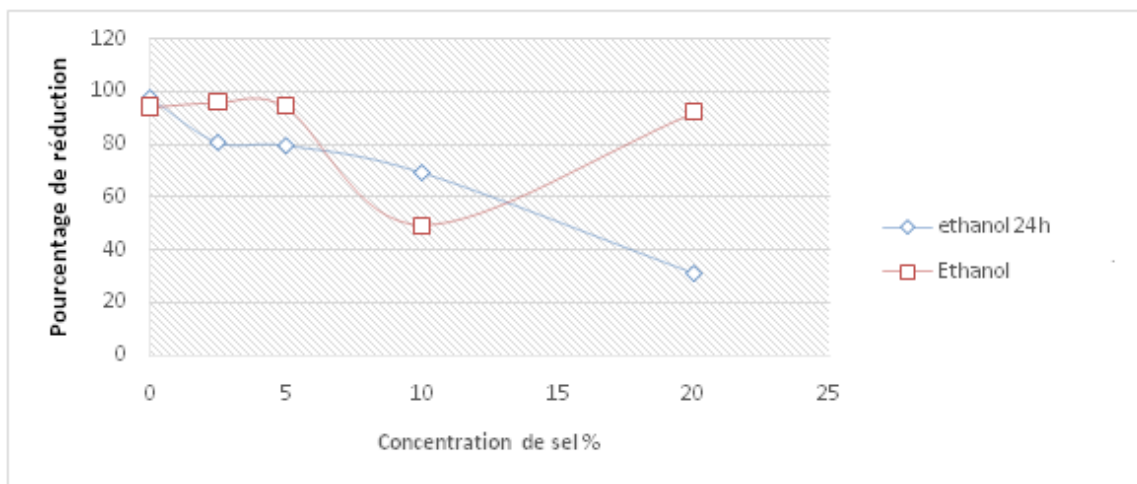


Figure V.11 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH par l'extrait dans la solution hydro-éthanolique (macération, extraction).

Les résultats montrent une activité remarquable de réduction du radical DPPH dans tous les extraits. Pour 5 % de sel l'extrait obtenu par décoction a atteint un pourcentage de réduction de (82.99 %). A cette même concentration l'extraction produit un pourcentage de réduction de (70.10 %). Pour macération à cette concentration reste trop faible (27.09 %).

La réduction de radical DPPH la plus élevée a été fournie par la décoction suivie par l'extraction et en dernier lieu par la macération.

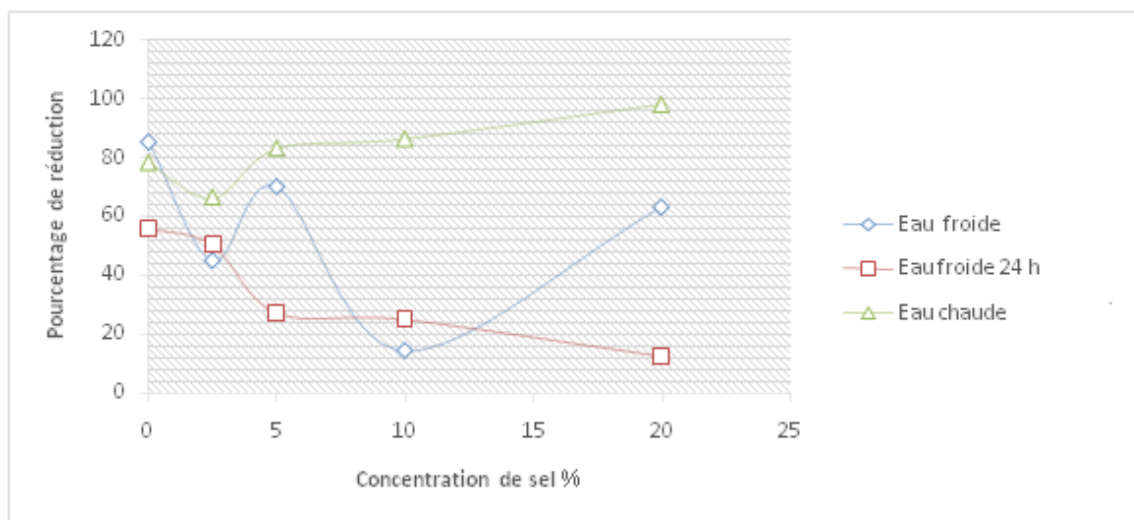


Figure V.12: Pourcentages de réduction du radical libre DPPH l'extrait aqueux (macération, extraction).

➤ **Le meilleur solvant :**

La (figure V.14) montre que L'extrait hydro-éthanolique présente un meilleur pourcentage de réduction (94,26 %), par contre les extraits aqueux présentent le plus faible de pourcentage (82.99 %), donc les extraits obtenus en utilisant la solution hydro-éthanolique sont très efficaces pour le piégeage des radicaux DPPH grâce à leur teneur élevée en composés polyphénoliques puisque ces derniers sont très solubles dans ce solvant alcoolique.

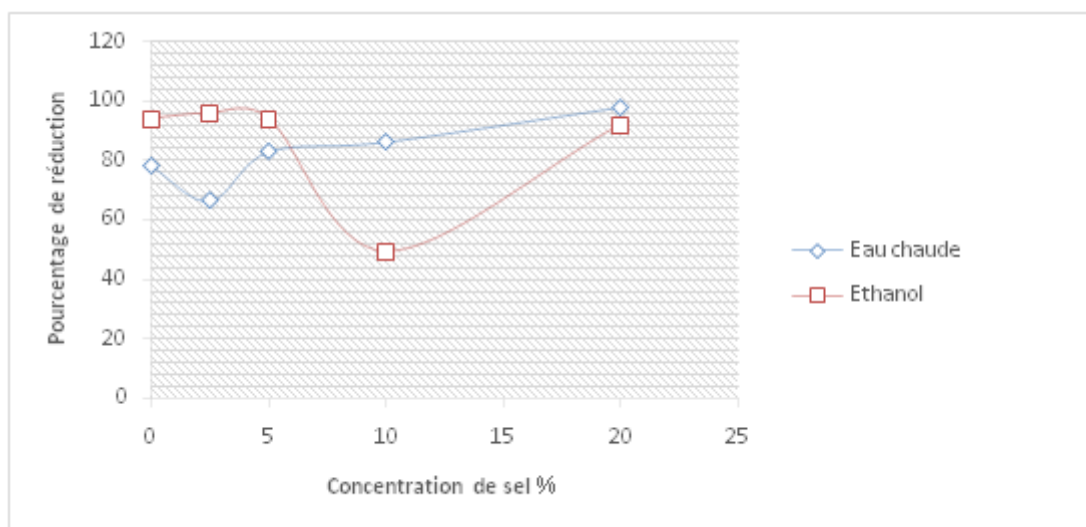


Figure V.13 : l'effet du solvant d'extraction sur la réduction du radical libre DPPH.

A la fin d'étude, on conclut que toutes les méthodes d'extraction sont efficaces pour l'obtention des extraits qui sont efficaces pour la réduction de DPPH grâce à leur teneur élevée en composé phénolique.

Pour 5 % de sel, il y a une meilleure teneur de polyphénol et à ce même taux de sel nous avons la meilleure réduction, ceci donne la relation entre la teneur polyphénolique et la réduction de DPPH telle que plus la teneur en polyphénols totaux augmente plus le pourcentage de réduction augmente. Ce qui est normal puisque les polyphénols totaux sont les antioxydants (Figure V.14).

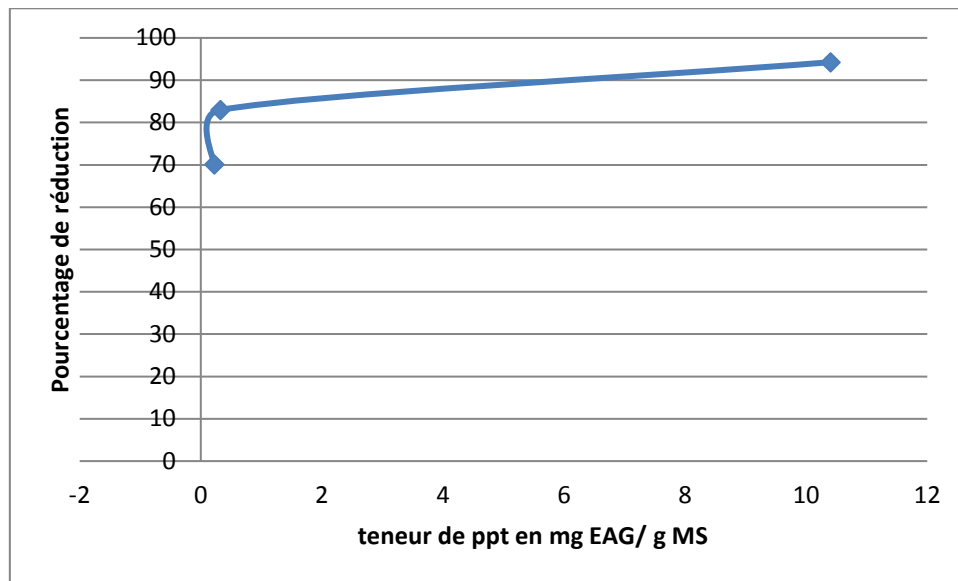


Figure V.15 : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction de teneur PPT.

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qui sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

Le présent travail consiste en l'évaluation de l'activité antioxydante au niveau des bulbes d'ail, et déterminer la teneur des polyphénols en utilisant deux solvants (hydro-éthanoliques 80% et l'eau), la méthode d'extraction et étudier l'effet de l'ajout de sel à différentes proportions (0 %, 2.5 %, 5 %, 10 %, 20 %).

La teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante dépend aussi bien du solvant d'extraction utilisé, de mode d'extraction, c'est-à-dire, la durée de l'extraction et la température.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteu a révélé la présence des quantités importantes en polyphénols totaux avec (10.4 mg EAG/g MS) et (0.2.mg EAG/g ms) pour les extraits de la fraction éthanolique et de la fraction aqueuse respectivement. En notant que c'est la fraction hydro – éthanolique qui présente les teneurs les plus élevées pour ces dosages.

La progression de temps d'extraction peut diminuer la teneur en composé phénolique de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols. L'ajout de sel à des proportions optimales favorise la solvatisation des polyphénols totaux. Les meilleurs rendements obtenus sont à la concentration de sel qui varie en moyenne entre 5 et 10% quel que soit la nature de solvant et le mode d'extraction

L'évaluation de l'activité antioxydante indique que la fraction organique présente un pourcentage de réduction des radicaux libres DPPH plus important comparant aux autres fractions aqueuse puisque ces dernières comportent une petite quantité en polyphénol totaux comparé aux proportions obtenues dans l'éthanol aqueux. On conclut que le pourcentage de réduction de DPPH augmente avec l'augmentation des concentrations des polyphénols totaux.

Globalement, la plante sélectionnée dans ce travail contient probablement des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires, ...etc.

- [1] Favier, A. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, (2003). 108-115.
- [2] Judde A. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications?. *Oleagineux, Corps Gras, Lipides*. 2004. 11(6) : 414-418.
- [3] Cesarini J-P. Le sélénium : actualité. 2em éd. John Libby eurotext. (2004). 145.
- [4] Slater A.F, et al S. 1995. Signalling mechanism and oxidative stress in apoptosis. *Toxicology Letters*. 82/83: 149-153
- [5] Kooppenol W.H. The Haber- Weiss cycle, 70 years later. *Redox Report*. 2001. 6: 229-234.
- [6] Pincemail, J., et al. Intracellular free iron content of rat liver tissue after coldischemia. *Transplant Proc*, (2002). 34 (3): 759-61.
- [7] Hadi M. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteur de radicaux libres; études et applications thérapeutiques: Chapitre I. Thèse doctorat. 2004. P: 13-28.
- [8] Wardman, P., Candeias, LP. Fenton chemistry: an introduction. *Radiat Res*. (1996). 145 (5): 523-531.
- [9] Poston L, et Raijmakers M-T-M. Trophoblast Oxidative Stress, Antioxidants and Pregnancy Outcome. (2004). 18: 72-78.
- [10] Sorg, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences et des Lettres de Paris, Série II*. (2004). 327: 649-662.
- [11] Poortmans J-R et Boisseau N. Stress et exercices. In « Biochimie des activités physiques ». 2em éd. De Boeck Supérieur. (2003). 416- 417.
- [12] Valko M, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, (2007). 39, 44-84.
- [13] Cherubini A, et al. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*. (2005). 39: 841-852.

- [14] Hu S. G., Li L., et He X. W. Solide- phase extraction of esculetin from the ash barkof chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*. (2005). 1062: 31-37.
- [15] Powers S-K., Bradley W-N. ET Hudson M-B. Exercise-induced oxidative stress inhuman: Cause and consequences. *Free Radical biology &Medecine*. (2011). 51: 942-950.
- [16] Deaton C-M. et Marlin D-J. Exercise-Associated Oxidative Stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*. (2003). Vol 2.3: 278-291.
- [17] Fu L., Zhang Y., antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*. (2011). 129: 345-350.
- [18] Nair V-D., Panneerselvam R.et Gopi R. Studies on methanolic extract of Rauvolfia species from Southern Westren Ghats of India-In vitro antioxidant properties, characterization of nutrients and phytochemicals. *Industrial Crops and products*. (2012). 39:17-25.
- [19] Miwa K.et Fujita M. Increased oxidative stress suggested by low serum vitamin E concentrations in patients with chronic fatigue syndrome. *Food Chemistry*. (2008). 238.
- [20] Halliwell B., Gutteridge J.M.C., *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4 th ed. Oxford university Press, 2007.: 20-31.
- [21] Pincemail J et Defraigne J.O., *Les antioxydants : un vaste réseau de défense pourlutter contre les effets toxiques de l'oxygène*. Institut Danone. 2004.
- [22] Ratnam D-V., Ankola D-D., Bhardwaj V., Sahana D-K. ET Ravi-kumar M-N-V. role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective.*Journal of Controlled Release*. (2006). 113:189-207.
- [23] Gaté.L, Paul . J, Nguyen. Ba. G, K.D. Tew, H.Tapiero. Oxidative stress indced inpathologies the role of antioxidants. *Biomed Pharmacother*. (1999). 53,.169- 80.
- [24] Parrilla-Taylor, D.P., Zenteno-Savín, T., Antioxidant enzyme activities in Pacificwhite shrimp (*Litopenaeusvannamei*) in response to environmental hypoxia andreoxygenation. *Aquac*. 2011. 318, 379–383.

- [25] Zelko, IN., Marian, TJ., Folz, RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology & medicine*. (2002). 33: 337-349.
- [26] Nancy. J. Linford. S.I. chriner, E. peter, S. Rabinovitch. Oxidative Damage and Aging: Spotlight on Mitochondria. 2006. *Cancer Res*, 66: 2497-2499.
- [27] Lehucher-Michel, et al. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes. (Madi A., 2012).
- [28] Albrecht R. 1994. Aspect nutritionnels de la protection anti-radicalaire. *Médecine et Nutrition*. 111(1) :19-24.
- [29] Aichiou-karima, teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extraits bruts du fruit caroubier (*Ceratonia siliqua* L) master 2 université Abderrahmane Mira de Bejaia 2013-2014.
- [30] P. Buzzini, A. Pieroni, Antimicrobial activity of extracts of *Clematis vitalba* towards pathogenic yeast and yeast-like microorganisms *Fitoterapia*. (2003). 74. 397–400.
- [31] Gauche, E., Hausswirth, C. Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité*, (2006). 58: 43-66.
- [32] Wang, J; Mazza, G. Effect of Anthocyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW.264.7. Macrophages. *J. Agric.Food.Chem*. 50.4183-4189, 2002.
- [33] Stöckigt J. et al. Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electro phoretic-electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. (2002). *Journal of chromatography A* 967: 85-113.
- [34] Barlow SM, Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson. B. J. F. *Food Antioxidants*. 1990.: 253-307.
- [35] Marc F et al. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments .M/S ; *médecine sciences*, (2004). (20); 458-463.

- [36] Li Peiwu., et al. TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. *Chemistry and nutrition*, (1999) (10); 123-187.
- [37] Sanchez -Moreno C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and technology*. (2002). (8); 121-137.
- [38] Cao GH., Alessio H.M., Cutler R.G. Oxygen -radical absorbency capacity assay for antioxidants, *Free Radic. Biol. Med.*, (1993). 14; 303-311.
- [39] Magin D.V., et al. Photochemi -luminescence as a tool to determine the antioxidant activity in biological systems, *Mathematic modeling .la voisier*, (2000). 419.
- [40] Bruneton, J., *Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales*. 4ème édition, Tec & Doc, Lavoisier. (2009). Paris.
- [41] Marcheix, et al. *Les composés phénoliques des végétaux*. 2005.
- [42] Goetz, P., et al. *Vertus thérapeutiques d'une plante adaptogène*. (2009). Springer Science & Business Media.
- [43] Beta, T., et al., Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. 2005. *Cereal Chemistry* 82, 390-393.
- [44] Bruneton, J.,. *Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales*”, 4e éd, revue et augmentée, Tec & Doc-Éditions médicales internationales. (2009b) Paris, 1288.
- [45] Stalikas, C.D., Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. (2007). *Journal of separation science* 30, 3268-3295.
- [46] Chira, K., et al., Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, (2008). 6, 75 – 82.
- [47] Kening Y., Vincenzo D.L., Normand B. Creation of metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. (1995). *The plant cell* 7:1787-1799.
- [48] Merghem R. *Eléments de biochimie végétale*. Edition Baheddine. (2009).
- [49] Macheix, J.J., Flieriet, A et Christian, *Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaire d'importance économique*. PPTUR Lausanne. A (2005).

- [50] Ribereau-Gayonp. Les composés végétaux . Edition Dumond, Paris. (1968).
- [51] Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins):Gallic Acid metabolism. Nat. Prod. (1994). 11: 41-66.
- [52] Harborne JP. General procedures and measurement of total phenolics. In : Harborne JP. Plant phenolics. (1989). Academic Press, Londres, 1 28.
- [53] Heller W, Forkmann G. The flavonoids. Advances in research since 1986. InHarborne JB.Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman &Hall,London, (1993). 399-425.
- [54] Havsteen, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Therapeut. (2002). 96:67-202.
- [55] Sarni-Manchado P, CheynierV. Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec &Doc), (2006). Paris, 300-398.
- [56] Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V. The contribution of flavonoid C-ring on DPPHfree radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substitutedmembers. Innovat Food Sci Emerg Tech, (2006). 7: 140-146.
- [57] Mukohata, Y., Quercetin, an energy transferinhibitor in photophosphorylation. FEBS Lett, (1978). 85: 215– 218.
- [58]Gamet-Payrastre, et al. Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3- kinase. General Pharmacology. (1999). 32: 279- 286.
- [59] BrunetonJ; Pharmacognosie : phytochimie , plantes médicinales; 2eme edd; lavoisier techniques et documentation; (1993); Paris.
- [60] Middleton E ; The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, Heart Disease and Cancer; (2000); Pharmacol Rev, 52: 673-839.
- [61] Scalbert, A.,Williamson,G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. Journal of Nutrition, (2000). 130 : 2073-2085.
- [62] Bruneton, J. Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris: Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier. (1999).
- [63] Moure, A., et al. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry, (2001). 72, 145–171.

- [64] Dugravot, S., Les composés secondaires soufrés des Allium: Rôle dans les systèmes de défense du poireau et actions sur la biologie des insectes. Université François Rabelais-Tours. (2004).
- [65] Judd, W.S., et al., Botanique systématique: une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur. (2002).
- [66] Lanzotti, V., The analysis of onion and garlic. Journal of chromatography A 1112, 3-22. (2006).
- [67] Timite, G., Isolement et caractérisation des saponosides de plantes de la famille des Alliaceae, Caryophyllaceae et Polygalaceae, et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales. Dijon. (2012).
- [68] Najjaa, H., et al., Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre Allium, Allium roseum L. et Allium ampeloprasum L. Acta Botanica Gallica 158(2011), 111-123.
- [69] Boullard, B. Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. De Boeck Secundair. (2001).
- [70] Goetz, P.e., al, Phytothérapie anti-infectieuse. Springer Science & Business Media. (2012).
- [71] Fenwick, G.R., Hanley, A.B., Whitaker, J.R., 1985. The genus Allium—part 1. Critical Reviews in Food Science & Nutrition 22, 199-271.
- [72] Leblond, N., Les Allium de Midi-Pyrénées, Conservatoire botanique pyrénéen. Isatis n°6, (2006).
- [73] Bogin, E., ABRAMS, M., EARON, Y., 1984. Effect of garlic extract on red blood cells. Journal of Food Protection 47, 100-101.
- [74] Pinto, J.T., Krasnikov, B.F., Cooper, A.J., Redox-sensitive proteins are potential targets of garlic-derived mercaptocysteine derivatives. The Journal of nutrition 136, 835S-841S. (2006).
- [75] François Nsemi Muanda. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paul Verlaine-Metz.

- [76] Omar, S.H., Garlic and Cardio vascular Diseases. Natural Products, pp. 3661–3696. (2013).
- [77] Majewski, M., Allium sativum: facts and myths regarding human health. RocznikiPanstwowegoZakladuHigieny Journal Impact Factor, vol 65, pp 1–8. (2014).
- [78] Fischer, G., Allium sativum and Allium ursinum: Part 1 Chemistry, analysis, history, botany. Phytomedicine, vol 4, pp 323-339. (1995).
- [79] Corzomartinez, M., Corzo, N., Villamiel, M., Biological properties of onions and garlic. Trends in Food Science & Technology, vol 18, pp 609–625. (2007).
- [80] Mikaili, P., et al., Therapeutic uses and pharmacological properties of garlic, shallot, and their biologically active compounds. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, vol 16, pp 1031. (2013).
- [81] Lee, D.Y., et al., Anti-Inflammatory Activity of Sulfur-Containing Compounds from Garlic. Journal of Medical Food, vol 15, pp. (2012).
- [82] Boizot, N., & Charpentier, J. P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. Le cahier des techniques de l'Inra, 79 - 82. (2006).
- [83] Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarim J.Sci.Technol, 26, 211–219. (2004).
- [84] Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowskib. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, (4), 1–8. (2010).
- [85] Chérifa Boubekeri. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. Doctorat en sciences Spécialité: Chimie. Université Mohamed Khider –Biskra 20 Mai (2014).
- [86] Cazes D-J. Encyclopedia of Chromatography In « Phenolic Acids in Naturel Plants: Analysis by HPLC». P1806. (2005).
- [87] Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R., et Larondelle Y. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (Tropaeolum

tuberosum Ruiz & Pavon) tubers. Separation and Purification Technology. 55:217-225. (2007).

[88] Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G. Comparaison of extracts prepared from plant by- products using different solvents and extraction time. Journal of Food Engineering. 71: 214-222. (2005).

[89] Liyana-Pathirana C et Shahidi. Optimisation of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. Food Chemistry 93:47-56. (2005).

[90] Naczki M et Shahidi F. Extraction and analysis of phenolic in food. Journal of chromatography A: Food Science. 1054: 95-111. (2004).

[91] Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M. Extraction des polyphénols Du laboratoire à la production industrielle. Ed. Inra (Bordeaux, France). 267 p. (1996).

Annexe 01 : Les propriétés physiques de l'alliine.

Masse molaire = 186,2 g/mol

Le point de fusion se situe entre 164 et 166°C

L'alliine n'a aucune couleur, aucune odeur

Le pouvoir rotatoire de l'alliine est de + 63,5°C

Facilement soluble dans l'eau, et insoluble dans l'éthanol, le chloroforme, l'acétone, l'éther et le benzol.

Annexe 02 : Les propriétés physiques de l'alicine.

Masse Molaire $C_6H_{10}S_2O = 180$ g/mol

Sans couleur à jaunâtre pour l'huile

Odeur d'ail

Instable à la chaleur

Masse volumique : 1,112

Indice de réfraction à 20°C : 1,561

Soluble dans l'eau à 10°C : 1,5%

Facilement soluble dans l'alcool, l'éther, et le benzol

Annexe 03: Spectroscopie UV-Visible.

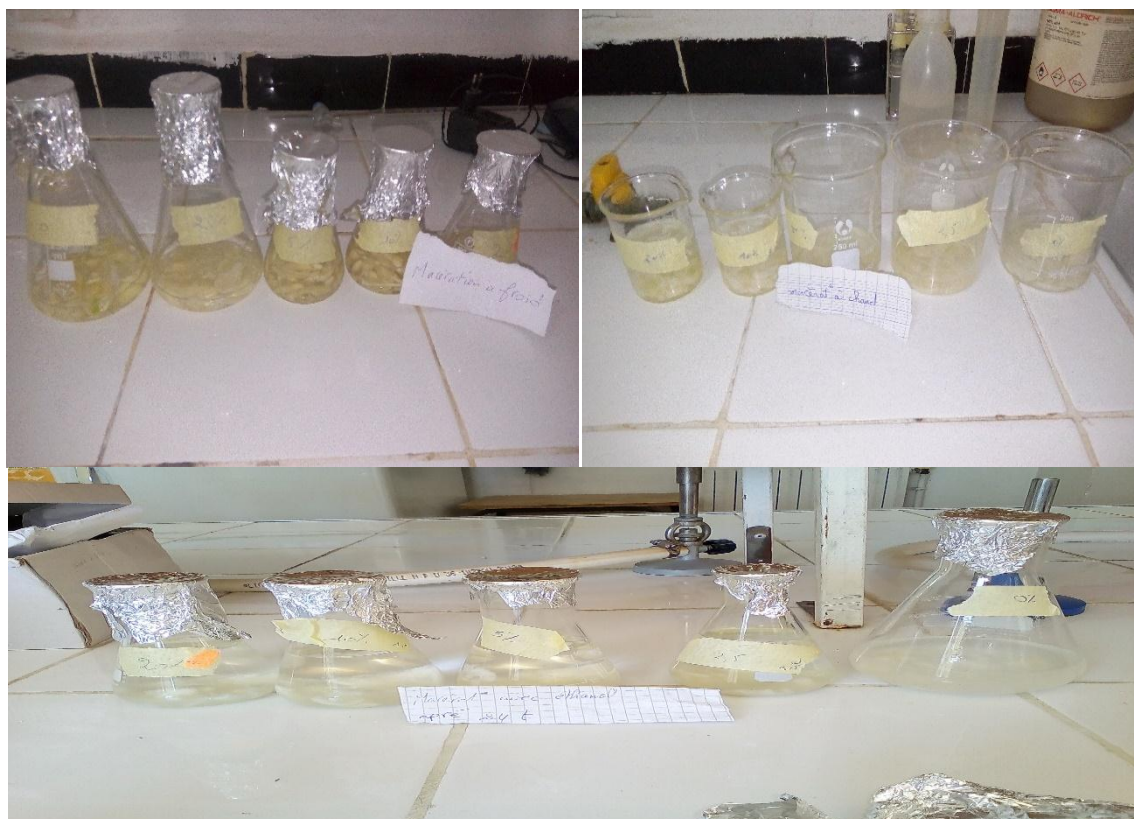


Annexe 04: Evaporateur rotatif.

Le principe du rotavapor est basé sur la distillation du macérât sous vide. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant :

- Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation.
- Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation.
- Ouvrir le robinet d'eau froide relié au réfrigérant.
- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau.
- Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude.
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant.
- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif.
- Enfin, couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau.

Annexe 05 : Traitement de l'ail et extraction des produits antioxydants.



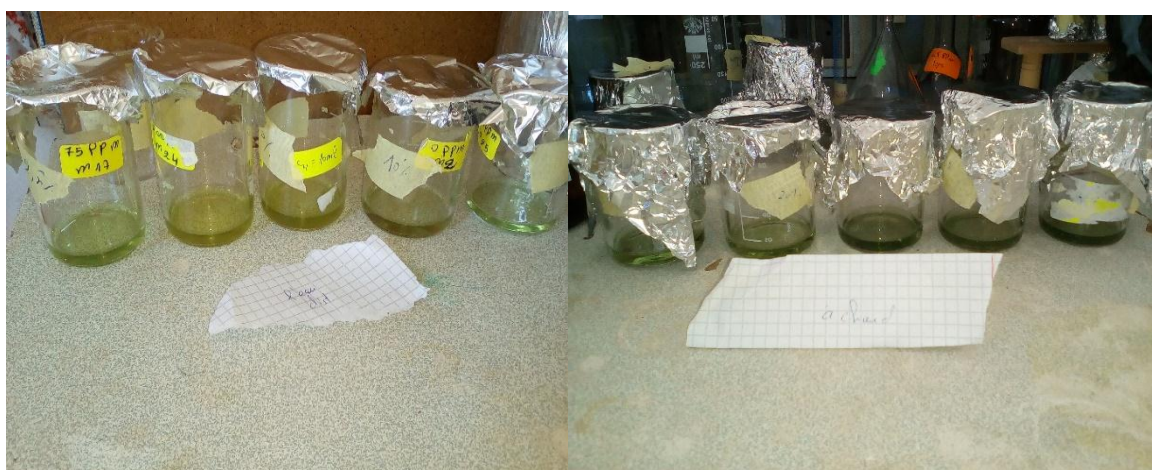
Annexe 06 : Décoloration d'extraits éthanoliques après le test de DPPH.



Annexe 07 : Décoloration d'extraits aqueuse après le test de DPPH.



Annexe 08 : Décoloration d'extraits aqueuse après le dosage de PPT.



Annexe 09 : Décoloration d'extraits éthanoliques après le dosage de PPT.



Annexe 10 : Les propriétés physiques d'acide gallique.

Masse molaire $C_7H_6O_5$: 170,1195 g/mol

Solubilité : 11,9 g, l^{-1} (eau 20 °C)

Masse volumique : 1,694 g, cm^{-3} à 6 °C

Présenté sous forme d'une pale, inodore, saveur, astringente et acide

Soluble dans méthanol, éthanol, eau chaude ,acétate d'éthyle

Annexe 11 : Les propriétés physiques de réactif DPPH.

Masse molaire $C_6 H_{12}N_5 O_6$: 394,32 g/mol.

Insoluble dans l'eau.

La masse volumique : 1,4 g/ cm^3 .

Soluble dans méthanol, éthanol, eau chaude, acétate d'éthyle.

Présenté sous forme d'une poudre noir.

Annexe 12 : Absorbances de la gamme déconcentration d'acide gallique.

| Concentration (mg/ml) | Absorbance |
|-----------------------|------------|
| 0.03 | 0.128 |
| 0.06 | 0.245 |
| 0.09 | 0.370 |
| 0.12 | 0.463 |
| 0.15 | 0.598 |
| 0.18 | 0.662 |
| 0.21 | 0.816 |
| 0.24 | 0.874 |
| 0.27 | 0.973 |
| 0.30 | 1.104 |

Annexe 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.